

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année Scolaire 1923 - 1924 — N° 143

RECHERCHES
au sujet de l'action exercée par l'insuline
sur
DIFFÉRENTS HYDRATES DE CARBONE

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTÉ de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

et soutenue publiquement le 5 Juillet 1924

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Jean ENSELME

Ancien Interne provisoire des Hôpitaux de Lyon

né à LYON (Rhône) le 7 Janvier 1895



LYON

Imprimerie BOSC FRÈRES & RIOU

42, Quai Gailleton, 42

Téléphone 63-56

—
1924

RECHERCHES AU SUJET DE L'ACTION
EXERCÉE PAR L'INSULINE
SUR DIFFÉRENTS HYDRATES DE CARBONE

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année Scolaire 1923 - 1924 — N° 143

RECHERCHES
au sujet de l'action exercée par l'insuline
sur
DIFFÉRENTS HYDRATES DE CARBONE

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTÉ de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

et soutenue publiquement le 5 Juillet 1924

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Jean ENSELME

Ancien Interne provisoire des Hôpitaux de Lyon

né à LYON (Rhône) le 7 Janvier 1895



LYON

Imprimerie BOSC FRÈRES & RIOU

42, Quai Gailleton, 42

Téléphone 63-56

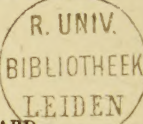
—
1924

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen honoraire..... MM. H. HUGOUNENQ.
Doyen..... J. LEPINE.
Assesseur..... ROQUE.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. AUGAGNEUR, CAZENEUVE, BEAUVISAGE,
LACASSAGNE, TESTUT, FLORENCE (A.), TEISSIER.



PROFESSEURS

Cliniques médicales.....	MM. BARD.
Cliniques chirurgicales.....	ROQUE.
Clinique obstétricale et Accouchements.....	TIXIER.
Clinique ophtalmologique.....	BERARD.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....	COMMANDEUR.
Clinique neurologique et psychiatrique.....	ROLLET.
Clinique des maladies des enfants.....	NICOLAS.
Clinique des maladies des femmes.....	LEPINE (J.)
Clinique d'oto-rhino-laryngologie.....	WEILL.
Clinique des maladies des voies urinaires.....	VILLARD.
Clinique chirurgicale, infantile et orthopédie.....	LANNOIS.
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie.....	ROCHET.
Chimie biologique et médicale.....	NOVE-JOSSERAND
Chimie organique et Toxicologie.....	CLUZET.
Matière médicale et Botanique.....	HUGOUNENQ.
Parasitologie et Histoire naturelle médicale.....	MOREL.
Anatomie.....	BRETIN.
Histologie.....	GUIART.
Physiologie.....	LATARJET.
Pathologie Interne.....	POLICARD.
Pathologie et Thérapeutiques générales.....	DOYON.
Anatomie pathologique.....	COLLET.
Chirurgie opératoire.....	MOURIQUAND.
Médecine expérimentale et comparée et bactériologie.....	PAVIOT.
Médecine légale.....	Y.
Hygiène.....	ARLOING (F.).
Thérapeutique, hydrologie et climatologie.....	Etienne MARTIN.
Pharmacologie.....	COURMONT (P.).
	PIC.
	X.

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Chargé d'un cours de Pathologie externe.....	MM. VALLAS.
— — — Propédeutique de gynécologie.....	CONDAMIN.
— — — Chimie minérale.....	BARRAL.
— — — Urologie.....	GAYET.

CHARGES DE COURS COMPLEMENTAIRES

Anatomie topographique.....	MM. PATEL.
Orthopédie.....	LAROYENNE.
Puériculture et hygiène de la première enfance.....	CHATIN.
Chirurgie expérimentale.....	LERICHE.
Stomatologie.....	TELLIER.

AGREGES

MM. NOGIER.	MM. COTTE.	MM. CORDIER (V.).	MM. MAZEL.
THEVENOT Léon.	DUROUX.	ROUBIER.	SANTY.
GARIN.	TRILLAT.	FAVRE.	DUNET.
SAVY.	SARVONAT.	BONNET.	CHALIER (André).
FROMENT.	FLORENCE (G.).	RHENTER.	CHALIER (Joseph).
THEVENOT (Lucien)	ROCHAIX.	LEULIER.	NOEL.
PIERY.			CORDIER (Pierre).

M. BAYLE, secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THESE

MM. HUGOUNENQ, président ; COUVREUR, assesseur ;

SAVY et SARVONAT, agrégés.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation.

A LA MEMOIRE DE MON PERE

A MA MERE

A MA FEMME

A MES AMIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR HUGOUNENQ,

Doyen honoraire de la Faculté de Médecine
Professeur de Chimie biologique à la Faculté de Médecine
Commandeur de la Légion d'honneur.

Il nous a fait le grand honneur de nous inspirer notre thèse. Il nous a accueilli avec bienveillance dans son laboratoire, nous initiant avec une patience inépuisable à la pratique de la Chimie biologique. Nous le remercions de la confiance qu'il a bien voulu nous témoigner et nous lui adressons avec l'hommage de notre profonde admiration, l'expression de notre reconnaissance. Qu'il croit à notre entier dévouement.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR JEAN LEPINE,

Doyen de la Faculté de Médecine,
Professeur de Clinique neurologique
à la Faculté de Lyon.
Chevalier de la Légion d'honneur

Nous avons eu l'honneur d'être son élève. Il nous témoigne depuis longtemps une grande bienveillance et nous avons trouvé auprès de lui une sollicitude toujours affectueuse.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR COUVREUR,

Professeur de Physiologie générale et comparée
à la Faculté des Sciences.,
Chevalier de la Légion d'honneur.

Nous avons eu le plaisir de suivre ses cours. Il nous honore aujourd'hui en faisant partie de notre jury de thèse. Nous lui adressons nos respectueux remerciements et nous l'assurons de notre absolu dévouement.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR PIC,
Médecin honoraire des Hôpitaux,
Professeur de Thérapeutique à la Faculté,
Chevalier de la Légion d'honneur.

Il fut notre premier maître, le souvenir de son enseignement et de sa grande bienveillance resteront toujours en notre mémoire.

A MONSIEUR LE DOCTEUR SAVY,
Médecin des Hôpitaux,
Professeur agrégé à la Faculté
Chevalier de la Légion d'honneur

C'est dans son service, ou nous avons toujours reçu l'accueil le plus obligeant que nous avons puisé une bonne part de notre instruction médicale. Qu'il nous soit permis de lui dire notre profonde reconnaissance pour sa bienveillance et pour l'honneur qu'il nous fait en faisant partie de notre jury.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ SARVONAT

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ FLORENCE,

A MONSIEUR LE DOCTEUR COUTURE,
Préparateur de Recherches
au Laboratoire de Chimie biologique.

Ils guidèrent nos premiers pas dans l'étude de la Chimie biologique. Ils nous ont aidé de leurs conseils avisés. Nous les en remercions profondément.

A MES MAÎTRES DANS LES HÔPITAUX



Digitized by the Internet Archive
in 2026

RECHERCHES AU SUJET DE L'ACTION
EXERCÉE PAR L'INSULINE
SUR DIFFÉRENTS HYDRATES DE CARBONE

Introduction.

Les hydrates de carbone jouent un rôle considérable dans les phénomènes vitaux. Depuis les travaux de Lavoisier, les transformations qu'ils subissent dans l'organisme animal ou végétal sont bien connues. On sait que le cycle des hydrates de carbone commence avec l'anhydride carbonique de l'air et l'eau, créant par leurs combinaisons des hydrates de carbone complexes que les êtres vivants brûlent pendant leur vie ou qui se détruisent sous l'action des microbes du sol après la mort.

Les *hydrates de carbone naturels* sont nombreux ; les plus simples sont les sucres :

Il s'agit essentiellement de *sucres hexosiques*. Parmi ces derniers, le *glucose* est le plus répandu dans la nature. Il apparaît chez la plante à la fois au moment de la synthèse de l'amidon et au moment de sa désagrégation, mais c'est aussi un sucre d'origine animale qui se rencontre dans le sang à la dose physiologique de 0 gr.85

par litre. La *galactose*, un des deux sucres élémentaires, dont l'union constitue la lactose, ou sucre de lait, entre peut-être dans la composition du sang. Il se montre, suivant certains auteurs, comme un des éléments de la mucine salivaire et fait partie d'un groupe important de lipoides des centres nerveux (les galactosides : cérébrine, homocérébrine.)

Les sucres plus complexes (*disaccharides*), sont nombreux aussi : le *lactose*, qui se rencontre dans le règne végétal, constitue chez l'animal le sucre principal du lait ; on en trouve une faible dose dans le liquide amniotique. Le *maltose* semble devoir être considéré comme un sucre du sang, encore qu'il ne s'y trouve qu'en très faible quantité. Il se forme en abondance dans le tube digestif, au cours de la digestion salivaire et pancréatique des amylacés. .

Chez la plante, c'est un élément constant. Le *saccharose* est un des sucres les plus importants des réserves végétales. Le *tréhalose* a été décelé dans quelques végétaux (le bolet, l'ergot, la manne de Perse), enfin le *mélibiose* ne se voit guère que dans quelques mannes.

Quelques *trisaccharides* (mélitose, raffinose, gentianose) et un *tétrasaccharide* (stachyose) n'ont été décelés que chez les végétaux.

Les *anhydroses* sont des hydrates de carbone beaucoup plus complexes. La *dextrine* apparaît au cours de la dégradation des hydrates de carbone complexes, tel que l'amidon. On distingue aujourd'hui une amylo-dextrine une erythro-dextrine et une achroo-dextrine dans la dextrine brute. Ces distinctions se basent sur les différences de coloration obtenues avec une solution d'iode.

L'*amidon* est l'élément essentiel des réserves des végétaux supérieurs. Le *glycogène* constitue au contraire l'élément essentiel des réserves animales. Les *celluloses*, les *hémicelluloses*, les *inulines* jouent un rôle considérable dans les réserves plastiques des végétaux. Enfin, on doit signaler chez la plante, des complexes : *xylane* et *arabane*, qui sont des hydrates de carbone donnant par hydrolyse des pentoses.

On le voit, les hydrates naturels sont bien connus, et leur métabolisme s'éclaire chaque jour à la lumière des nombreuses expériences réalisées par les chimistes et les physiologistes. Au milieu du *xviii^e* siècle, Claude Bernard montra le rôle de la réserve hépatique dans le métabolisme des hydrates de carbone. Puis, en 1889, Raphaël Lépine, en France, Minkowski, en Allemagne, montrèrent le rôle considérable du pancréas comme régulateur de métabolisme. Laguesse, en 1893, établit histologiquement que le produit actif sécrété par le pancréas, doit être rapporté aux cellules des îlots de Langerhans.

Dès lors, les auteurs réalisent des extraits pancréatiques actifs, mais ils éprouvent pour cela de grandes difficultés et notent l'inconstance de l'activité des produits obtenus. Peu à peu, l'idée se fait jour qu'une destruction du produit de la sécrétion interne s'opère au contact du produit de sécrétion externe du pancréas, et pour éviter cet inconvénient, Gley, en 1905, fait une injection de cire dans le canal de Wirsung d'un animal en expérience, puis après que la glande à sécrétion externe a dégénéré, il fait un extrait pancréatique actif. Cependant, les résultats de cette expérience n'ont été pu-

bliés que récemment, cette découverte ayant été consignée dans un pli cacheté déposé à l'Académie des Sciences.

En 1922, des auteurs canadiens : Macleod, Banting et Best, de Toronto, ont donné une méthode pratique pour réaliser un extrait pancréatique actif, qu'ils appellent *l'insuline*.

L'intérêt de ce produit est considérable. Tout d'abord, au simple point de vue pratique, on dispose d'un médicament qui semble agir de façon puissante sur cette dyscrasie encore mal connue qu'est le diabète. L'insuline est, en outre, d'un très grand intérêt scientifique. Elle apparaît aujourd'hui comme l'élément primordial de la régulation du métabolisme des hydrates de carbone.

Nous nous sommes demandé comment elle agissait sur les différentes transformations que ces corps subissent dans l'organisme animal. Nous avons entrepris, pour cela, une série de recherches très simples, la plupart *in vitro*. Malgré nos efforts, nous n'avons noté qu'un petit nombre de résultats positifs. Ils ne nous paraissent pas dépourvus de tout intérêt.

Nous indiquerons tout d'abord quelles furent les méthodes que nous avons utilisées, nous donnerons ensuite nos résultats, et nous nous efforcerons, dans une étude synthétique, fondée sur ces résultats et sur ceux obtenus par différents auteurs, de dégager l'idée qu'on peut se faire aujourd'hui de l'action de l'insuline sur le métabolisme des hydrates de carbone.

Composition chimique de l'insuline.

La composition chimique de l'insuline est encore complètement inconnue. C'est un produit dont l'activité s'atténue, puis disparaît en quelques mois ; dont l'action n'est pas proportionnée à la quantité employée, et qui a jusqu'à présent échappé aux investigations des chimistes. Epuisant la glande pancréatique par l'alcool ou l'eau pour dissoudre l'insuline, on entraîne dans ces solvants une quantité considérable d'impuretés : graisses ou albuminoïdes. L'insuline, perdue au milieu de ces substances inactives et cependant participant de leurs propriétés chimiques, n'a pas encore été isolée. Pour séparer les impuretés du principe actif, il a fallu tout d'abord chercher des précipitants de l'insuline. Pour déterminer ceux-ci, on additionne la liqueur de divers réactifs. Quand on obtient un précipité, on le sépare de la portion restée soluble, chaque fraction est ensuite essayée séparément sur l'animal pour reconnaître le produit de séparation qui a entraîné le principe hypoglycémiant.

Ainsi, on a démontré que l'insuline était soluble (181) dans les corps suivants : alcool éthylique, alcool isobu-

tylique, alcool méthylique à un taux inférieur à 90°, chloroforme, acétone, pétrole, benzène, xylène, pyridine, acide acétique glacial, tétrachlorométhane.

D'autres corps, au contraire, précipitent l'insuline ; nous les énumérerons lorsque nous étudierons la purification de l'insuline. Ces corps ont été utilisés pour préparer un produit aussi pur que possible. Malgré tout, ils entraînent généralement, avec le principe actif, une quantité importante d'impuretés. Récemment, cependant, Horace et Shonle (176), à la suite de la purification d'un extrait aux points isoélectriques, et par l'acide trichloracétique, ont obtenu un produit qui est encore actif, tout en paraissant répondre à une constitution assez simple. Plusieurs préparations ont été dosées par ces auteurs, avec des résultats très différents. Voici les chiffres minima compatibles avec l'activité du produit, obtenus par ces auteurs :

C = 36,16 %.

H = 6,13 %.

N = 13,52 %.

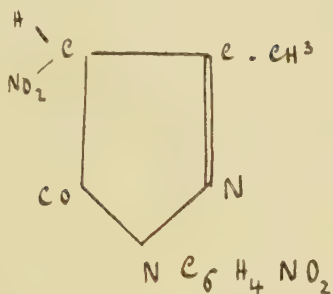
N par unité = 0 mil. 0061.

Après hydrolyse par les acides, on a trouvé 70 % à 75 % d'azote, sous forme d'acides aminés, soit :

Mélanine et azote amidé 7 à 10 %.	} de l'azote total.
Tyrosine 3,6 %.	
Cystine 3,2 %.	
Acides diaminés 35 %	

Sous la direction de M. le Professeur Hugounenq, nous avons essayé l'action de l'acide picrolonique sur l'insuline.

Cet acide, de formule :



est la *dinitro-phényl-méthyl-pyrazolone*. Il a été préparé selon la technique de Bertram, modifiée par MM. Hugounenq, Florence et Couture. Il précipite au contact d'une insuline encore impure des cristaux microscopiques très nets, qui à un grossissement suffisant, apparaissent groupés en boules hérissées de pointes. (Planche I.) Leur ressemblance avec des cristaux de picrolonate d'arginine nous a fait, un instant, supposer qu'il s'agissait de cette diamine. Aussi, avons-nous essayé sur le lapin l'action de l'arginine, mais nous n'avons obtenu aucune modification de la glycémie chez cet animal. D'autre part, la recherche du point de fusion nous a montré qu'il ne s'agissait point d'un des acides diaminés connus, dont les picrolonates sont tous fusibles à une température inférieure à 270° , alors que nos cristaux de picrolonate n'étaient point encore fondus à 320° . Ces cristaux sont insolubles dans l'éther, l'eau et l'alcool ; l'acide chlorhydrique faible ne les altère pas, et pour les dissoudre, nous avons dû employer l'acide chlorhydrique concentré, à chaud (50°). Après avoir lavé par l'éther pour entraîner l'acide picrolonique déplacé, nous avons injecté la

solution de chlorhydrate au lapin; elle s'est montrée sans action sur la glycémie. L'analyse complète de ce corps a été faite par MM. Hugounenq, Florence et Couture, qui ont trouvé :

$$C = 41.6.$$

$$H = 3.3.$$

$$N = 15.6.$$

Ce dérivé contient en outre 4,78 % d'eau.

A l'état de chlorhydrate, ce corps est cristallisé en cristaux microscopiques rectangulaires que reproduisent la figure ci-dessous.



On peut voir aussi sur la planche représentant les cristaux de picrolonate qu'il s'agit d'une forme absolument différente du produit, obtenu en traitant l'insuline par l'acide picrique, produit qui n'est pas cristallin.

Il y a là probablement des faits intéressants à étudier.

Des expériences ultérieures pourront les dégager.

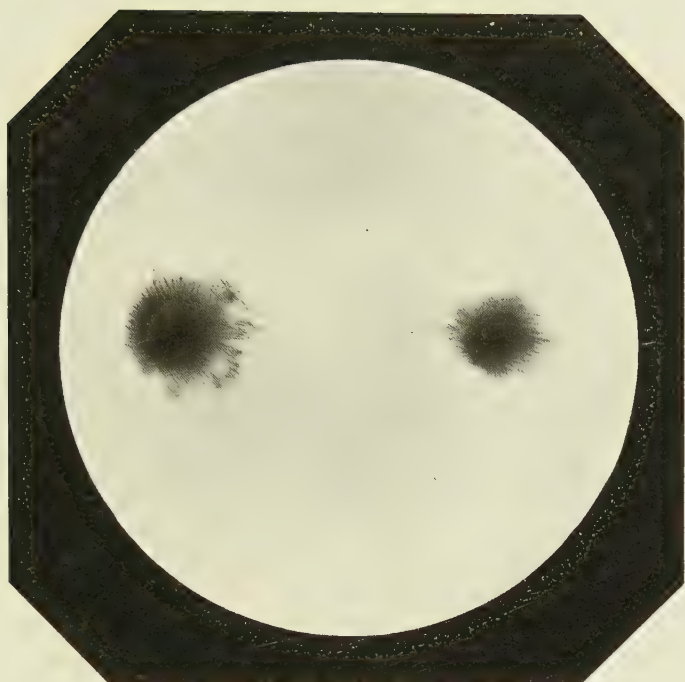


Fig. 1

Cristaux obtenus par l'action de l'acide picrolonique sur une solution d'insuline.

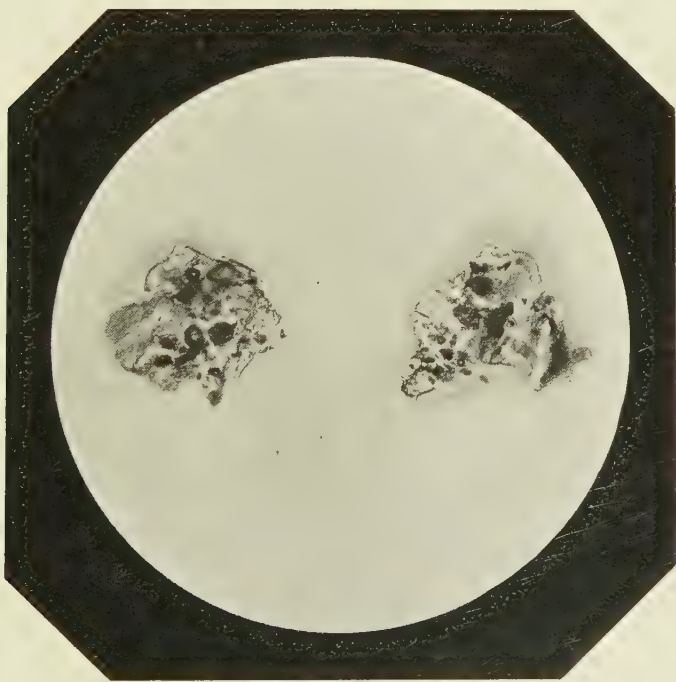


Fig. 2

Masses obtenues en traitant une solution d'insuline par l'acide picrique.

Techniques utilisées pour nos recherches.

I. — Précipitation des albuminoïdes.

Nous avons eu constamment à précipiter des albuminoïdes, soit albuminoïdes du sang, soit albuminoïdes de l'insuline utilisée. Ceci dans le but de doser les sucres, qu'il s'agisse d'un dosage Bertrand, d'un microdosage, ou d'un dosage au polarimètre. Nous avons toujours employé la *méthode de Folin et Wu* (2).

Les réactifs nécessaires étant une solution de tungstate de soude à 10 % et une solution de SO_4H_2 , 2/3 N. On précipite les albuminoïdes du sang en ajoutant une quantité de solution de tungstate et d'acide sulfurique égale chacune au volume de sang qui doit être traité.

Le mélange ainsi-formé par tungstate et acide sulfurique ne dévie pas la lumière polarisée, ce qui nous permet de nous servir de cette méthode pour nos examens polarimétriques.

II — Microdosage des sucres.

La méthode Bertrand ne peut pas être employée pour doser les quantités de sucre inférieures à 1 milligramme. Des microméthodes ont été préconisées par les chimistes biologistes qui permettent le dosage de ces quantités très minimales de sucre. Nous les avons utilisées pour doser le sucre contenu dans un centimètre cube de sang prélevé dans le ventricule gauche du cœur du lapin.

Aux méthodes colorimétriques qui reposent sur l'appréciation de différence d'intensité de couleurs, nous avons préféré la *méthode de Fontès et Thivolle* (4), qui apprécie des changements de coloration, plus sensibles à l'œil. Nous avons appliqué cette méthode en tenant compte des récentes modifications apportées par Paul Spehl (5). En voici la technique :

Nous plaçons dans un tube étalon 1 c/m³* de notre solution de glucose à 1 p. 1.000, complété avec de l'eau distillée à 2 c/m³ ; les 3 autres tubes reçoivent chacun 2 c/m³ des solutions à doser, déféquées de leurs albuminoïdes; chacun de ces 4 tubes reçoit en outre 2 c/m³ d'un mélange préparé extemporanément des deux solutions cupro-tartriques, l'ensemble est porté dans un récipient couvert contenant de l'eau en ébullition, il y est laissé 5 minutes, puis les tubes sont retirés et, rapidement, 5 gouttes de solution saturée de sulfate de magnésie et 4 gouttes de solution saturée de carbonate de soude sont ajoutées à chaque tube, ceux-ci sont alors remplis par un fort jet de pissette avec de l'eau bouillante ; on a un précipité de cuivre réduit. On centrifuge, décante l'eau de lavage par aspiration ; 5 c/m³ de solution molybdo-phosphorique sont ajoutés à chaque tube : nous nous servions pour cela d'une burette, l'opération devant être très rapidement exécutée. On laisse au contact 5 minutes, puis dans chaque tube l'on fait tomber goutte à goutte d'une burette

* cm³, lire : centimètres cubes.

graduée une solution de permanganate de potasse à 0 gr. 08 pour 1.000 jusqu'à décoloration. On a ainsi passé d'une teinte bleue très nette à un liquide incolore. On fait ensuite le rapport entre le nombre de c/m³ versés dans chaque tube et dans le tube témoin.

III. — Préparation de l'insuline.

Les méthodes préconisées pour préparer l'insuline sont nombreuses, elles reposent toutes sur ce fait généralement admis : le produit de sécrétion externe du pancréas détruit l'hormone de sécrétion interne. Ce principe n'est pas absolument démontré. En effet, s'il est facile *in vitro* de mélanger de l'insuline active à de la trypsine du commerce et de montrer qu'après un certain temps de contact à l'étuve, l'activité de l'insuline a disparu, il est facile aussi d'objecter à cette expérience qu'au niveau des cellules pancréatiques dans l'organe isolé, c'est non pas la trypsine active qui est au contact de l'insuline, mais une protrypsine inactive (34). D'ordre non plus théorique, mais pratique, est l'objection de Paulesco (31-32). Cet auteur affirme avoir réalisé un extrait pancréatique actif sans tenir aucun compte de la sécrétion externe du pancréas. Cependant, si l'on se reporte au travail original (29-30), on s'aperçoit qu'en réalité, pendant tout le temps de la préparation, l'extrait est maintenu au voisinage de 0°, ce qui suffit à inhiber l'ac-

tion de la trypsine. En fait, la majorité des méthodes admettent l'action destructive de la trypsine et cherchent à l'éviter.

L'opération comprend cinq temps :

- 1° Destruction de la sécrétion externe.
- 2° Obtention d'un extrait aussi complet que possible.
- 3° Réduction jusqu'à ce qu'un produit suffisamment actif soit obtenu sous un volume injectable.
- 4° Purification chimique du produit.
- 5° Purification bactériologique.

Examinons comment sont réalisés ces différents temps dans les méthodes diverses :

I. — *Destruction de la sécrétion externe.* — Ce furent d'abord des méthodes anatomiques qu'employèrent les physiologistes : ligature du canal de Wirsung, injection de cire dans ce canal (21). Après que les cellules de la sécrétion externe ont dégénéré à la suite de ces traitements, on peut faire un extrait glandulaire en toute sécurité. On chercha aussi parmi les animaux inférieurs ceux qui présentent normalement une glande de sécrétion interne indépendante de la glande à sécrétion externe : On utilisa ainsi le pancréas des téléostéens (23) ; les embryons de certains mammifères où les îlots langheranciens apparaissent les premiers furent également employés (7-8). Enfin, on pratiqua la perfusion du pancréas (13-28). Mais à ces méthodes difficiles à mettre en œuvre furent substituées des méthodes physicochimiques très simples, elles reposent sur la résistance de l'insuline à l'action

de certains facteurs qui détruisent la trypsine : la chaleur, à 60° pendant une heure ; une acidité de 1,2 pour 1.000 d'HCl ou de 13 p. 1.000 de CH³.COOH sont aujourd'hui employées couramment (12).

II. — *L'obtention d'un extrait* se fait en broyant la glande, puis en la laissant au contact d'un solvant : eau, (27) ou alcool à 60° pendant quelques heures. On épuise ensuite par la presse (12) ; ou par broyage avec du sable. On peut aussi simplement enlever le tissu glandulaire par centrifugation (11).

III. — *La réduction* se fait ensuite généralement dans le vide. Récemment on a proposé la réduction dans des boîtes de Pétri placées à l'étuve.

IV. — *La purification chimique* a été poursuivie par tous les auteurs, à la fois dans le but d'obtenir des solutions aussi pures que possible pour les analyser, et aussi pour obtenir un produit qui puisse être injecté sans provoquer de choc colloïdal.

Deux types de méthodes peuvent être utilisés pour séparer les impuretés qu'entraîne forcément l'eau ou l'alcool au contact du pancréas.

Les unes précipitent ces impuretés, alors qu'elles laissent l'insuline soluble dans l'eau-mère, les autres précipitent l'insuline, laissant solubles au contraire les impuretés. La séparation est ensuite facile par filtration.

Les premières mettent le plus souvent en œuvre de simples agents physiques :

1° Le refroidissement à 0° amène la congélation d'une grande quantité de graisses (11).

2° A la température de 55°, les graisses affleurent et peuvent être décantées (11).

3° A une concentration d'alcool de 80°, quelques protéines précipitent, alors que l'insuline est encore soluble (11).

4° Une certaine acidité : $\text{PH} = 3,5$ précipite des impuretés. Cette méthode est très employée en Amérique (18). On réalise très simplement l'adaptation aux différents PH par la méthode de Sorënsen (19).

5° Dans les extraits aqueux, la purification peut encore être obtenue par la dialyse. Mais à partir de la dixième heure de l'opération, l'insuline dialyse à son tour, et l'extrait perd de sa puissance.

6° Enfin, des corps divers précipitent des impuretés, on a utilisé surtout le sulfate d'ammonium (11).

Mais les méthodes visant à la précipitation de l'insuline elle-même sont beaucoup plus intéressantes. Elles sont aussi fort nombreuses :

1° L'insuline précipite en une poudre blanche si l'on ajoute à sa solution un volume égal d'éther ou d'alcool à 95° (11).

2° Certains acides (acides phosphotungstique et acide trichloracétique) la précipitent aussi.

3° Si l'on ajoute à l'insuline en solution du benzoate de soude et de l'acide chlorhydrique il se forme un précipité d'acide benzoïque qui entraîne l'insuline par adsorption (24).

4° Très récemment, Fisher a montré que l'extrait pancréatique contient deux principes antagonistes : l'un

hyperglycémiant, obtenu par addition d'un volume d'alcool, précipite en une poudre grise, l'autre, très hypoglycémiant, obtenu en ajoutant 8 volumes d'alcool après qu'on a séparé le précipité précédent, est le principe utile (20).

5° L'acide picrique donne une poudre jaune, que l'on transforme ultérieurement en chlorhydrate soluble (17).

V. — *La purification bactériologique* est obtenue par filtration.

Pour nos expériences, nous avons préparé une insuline très simple, selon la méthode de Chabanier (12) .

Le pancréas de veau ou de cheval recueilli à l'abattoir au moment de la mort de l'animal est rapporté au laboratoire entouré de glace. La glande est alors broyée, mélangée à un volume un peu inférieur au sien d'alcool à 90° acidifié par HCl à 1, 2 p. 1.000. L'ensemble est chauffé à 60° pendant une heure, puis abandonné 2 heures à la température de la chambre. On filtre, on exprime et place le filtrat sous la cloche à vide au-dessus de l'acide sulfurique. Lorsque le volume est réduit à peu près au quart, l'acidité est ramenée à 1, 2 d'HCl p. 1.000, et le résidu est filtré, on a alors une solution dont 1 c/m3 représente à peu près 1 unité Chabanier.

Dans un grand nombre de nos expériences, nous avons aussi utilisé une insuline du commerce. *

IV. — Dosage de l'insuline obtenue.

Ne connaissant pas la nature chimique de ce corps, ne l'ayant pas encore obtenu à l'état cristallisé, les auteurs n'ont pu donner une unité pondérale. L'unité est jus-

* Insuline Roussel.

qu'à présent purement biologique : c'est la quantité de produit actif nécessaire pour réduire de 60 pour cent la glycémie d'un lapin de 2 kilos à jeun depuis vingt quatre heures. En réalité, il n'y a pas toujours une proportion entre la dose employée et le résultat obtenu, et l'on ne peut considérer cette unité que comme un moyen grossier et provisoire d'évaluation.

Travaux personnels.

Toutes les recherches que nous avons entreprises ont été réalisées avec une insuline que nous avons préparée par la méthode de Chabanier ou avec une insuline du commerce « Insuline Roussel », préparée croyons-nous, par un procédé analogue. Dans l'un et l'autre cas, nous avons, au préalable, vérifié l'activité de notre insuline.

Sous l'inspiration et la direction de notre maître, M. le Professeur Hugounenq, nous avons entrepris une série de recherches destinées à nous renseigner sur le mode d'action de l'insuline. Pour cela nous avons mélangé des solutions d'insuline à divers hydrocarbonés. Puis nous avons cherché au dosage Bertrand et au polarimètre quelles modifications avaient subi ces hydrates de carbone après un séjour de 20 heures à l'étuve, à 37°, au contact de l'insuline.

Nous avons ensuite ajouté différents produits à notre mélange : sérum, bouillies d'organes, phosphates. Dans tous les cas, le tube en expérience était accompagné d'un témoin qui, en place d'insuline active, contenait une

égale quantité d'eau ou d'insuline inactivée par un chauffage d'une heure à 200° en tube scellé. Nous donnerons toujours le résultat du tube témoin avec celui du tube contenant l'insuline active qui lui correspond.

Toutes ces expériences ont été faites sous toluène pour protéger nos solutions des actions bactériennes qui auraient pu les altérer.

Nous publions nos résultats de dosage au polarimètre en calculant la quantité de sucre pour 100 gr. de solution, d'après la formule :

$$p = \frac{\alpha v}{l \cdot \rho}$$

On a :

α = déviation observée.

v = Volume de solution auquel on rapporte le poids p .

ρ = Longueur en décimètres du tube.

I. — ACTION DE L'INSULINE SUR LES SOLUTIONS DE DIFFÉRENTS HYDRATES DE CARBONE.

Dans la première série de recherches, nous avons placé à l'étuve, pendant 20 heures, des solutions de différents hydrates, en présence de solution d'insuline, en quantité telle que se trouvent à peu près réalisées les conditions physiologiques. Le dosage était exécuté au moyen de la méthode Bertrand et du polarimètre sur un tube en expérience et sur un tube témoin.

EXPÉRIENCE 1. — On place à l'étuve des tubes contenant :

Glucose en solution à 22 p. 1.000 :	5 c/m3
Eau :	2 c/m3
Insuline active :	}
ou insuline inactive :	
	1 c/m3

Après avoir déféqué les albumines de l'insuline, on trouve au dosage Bertrand :

1° Témoin :	110 millig. de sucre.
Insuliné :	110 millig.
2° Témoin :	110,5 millig.
Insuliné :	110 millig.
3° Témoin :	109,5 millig.
Insuliné :	110,5 millig.

Nous avons aussi pour le polarimètre placé des tubes contenant :

Glucose : à 22 p. 1.000	15 cm3.
Insuline active ou insuline inactivée :	2 cm3.

Après avoir déféqué les albumines de l'insuline on dose le glucose au polarimètre, et l'on trouve :

1° Témoin :	0,48 %
Insuliné :	0,478 %
2° Témoin :	0,485 %
Insuliné :	0,475 %
3° Témoin :	0,489 %
Insuliné :	0,485 %

EXPÉRIENCE 2. — On mélange:

Galactose : 5 cm3 de solution à 20 p. 1.000.
Insuline active ou inactivée : 2 cm3.

On trouve au dosage Bertrand :

Témoin : 100 millig.	Témoin : 99 millig.
Insuliné : 110 millig.	Insuliné : 101 millig.

On place encore pour dosage au polarimètre :

Galactose à 19,84 p. 1.000 :	10 cm3.
Insuline active ou insuline inactivée :	2 cm3.

Après avoir déféqué les albuminoïdes on a au polarimètre des solutions :

Témoin à 0,66 %.

Insuliné : 0,665 %.

EXPÉRIENCE 3. — On place à l'étuve :

Lévulose : 40 cm³ à 20 p. 1.000.

Insuline active ou inactivée : 2 cm³.

Les résultats, après défécation des albuminoïdes, sont :

1° Dosage Bertrand :

Témoin : 44 mill. 8.

Insuliné : 49,9.

2° au polarimètre :

Témoin : 1,73 %.

Insuliné : 1,72 %.

EXPÉRIENCE 4. — On place à l'étuve

Maltose : 40 cm³ à 18 p. 1.000.

Insuline active ou inactivée : 2 cm³.

Après défécation des albuminoïdes, on a :

1° au dosage Bertrand :

Témoin : 31 mill.

Insuliné : 32 mill.

2° au polarimètre :

Témoin : solution à 1,45 %.

Insuliné : solution à 1,68 %.

Témoin : solution à 1,45 %.

Insuliné : solution à 1,50 %.

EXPÉRIENCE 5. — On place à l'étuve :

Saccharose : solution à 20 p. 1.000.

Insuline active ou inactivée : 2 cm³.

1° Après 20 heures d'étuve, on n'a pas de réduction au dosage Bertrand.

2° Au polarimètre, le calcul indiquant que la solution doit être à 1,7 %, on trouve 1,65 %.

EXPÉRIENCE 6. — On place à l'étuve :

Lactose : 30 cm³ à 20,54 p. 1.000.

Insuline : 4 cm³.

Après défécation le calcul montre qu'on doit être en face d'une solution à 1,7 %, or, on trouve :

Dosage Bertrand : 1,75 %.

Dosage polarimètre : 1,74 %.

EXPÉRIENCE 7. — On place à l'étuve :

Dextrine à 20 p. 1.000 : 20 cm³.

Insuline active ou inactivée : 2 cm³.

Réduction minime dans les deux cas de 1 mil. 5 calculée en glucose et due à des impuretés.

EXPÉRIENCE 8. — On place à l'étuve :

Glycogène à 20 p. 1.000 : 20 cm³.

Insuline ou eau : 2 cm³.

Pas de réduction après séjour à l'étuve.

On le voit, en tenant compte des erreurs qui se sont forcément glissées dans nos manipulations, ces expériences peuvent être considérées comme entièrement négatives, et nous pouvons conclure à l'inaction totale de l'insuline sur les solutions des divers hydrates de carbone.

II. — Dans une SECONDE SÉRIE D'EXPÉRIENCES nous avons cherché les modifications apportées par l'insuline dans un mélange ainsi constitué :

Hydrate de carbone.
Sérum aseptique vieilli de chien.
Insuline.

Ce sérum ne contenait plus de glucose.

EXPÉRIENCE 9. — On place à l'étuve :

Glucose à 22 p. 1.000 : 30 cm³.

Sérum : 10 cm³.

Insuline ou eau : 10 cm³.

1° Sur 5 cm³ prélevés pour le dosage Bertrand après avoir déféqué les albuminoïdes :

Le calcul montre qu'il doit se trouver 52 mil. 5.

Le dosage Bertrand du tube témoin accuse 51 mil. 5.

Le dosage Bertrand du tube insuliné montre 52 millig.

Ce sérum est donc sans action glycolytique et dans un pareil sérum l'insuline a été sans action sur le glucose surajouté.

2° Au polarimètre, après défécation, le calcul montre que l'on est en présence d'une solution à 1,05 % ; le dosage polarimétrique nous donne un taux de 0,95 %.

EXPÉRIENCE 10. — On place à l'étuve :

Galactose à 20 p. 1.000 : 30 cm³.

Sérum : 10 cm³.

Insuline ou eau : 2 cm³.

1° Au dosage Bertrand, après défécation et prélèvement de 5 cm³ de filtrat, on a : Témoin : 65 millig.

Insuline : 64 millig.

Au polarimètre : Témoin : 1,33 %.

Insuliné : 1,30 %.

EXPÉRIENCE 11. — On place à l'étuve :

Lactose : 15 cm³.

Sérum : 5 cm³.

Insuline ou eau : 1 cm³.

1° Au dosage Bertrand on trouve :

Témoin : 24 mil. 45.

Insuliné : 23 mil. 5.

2° Au polarimètre les calculs montrent que l'on doit obtenir une solution à 0,29 %. Or, le tube insuliné nous donne une solution à 0,29 %.

EXPÉRIENCE 12. — On place à l'étuve

Saccharose à 20 p. 1.000 : 20 cm³.

Sérum : 10 cm³.

Insuline : 1cm³.

On n'a pas de réduction.

EXPÉRIENCE 13. — On place à l'étuve :

Levulose à 20 p. 1000 : 30 cm³.

Sérum : 10 cm³.

Insuline : 2 cm³.

1° Après défécation et prélèvement pour le dosage Bertrand, une solution qui doit être de 55 mil. de lévulose, donne 54 millig.

2° Au polarimètre, après défécation, une solution qui doit être, d'après le calcul à 0,946 %, donne 0,937 %.

En résumé, le mélange de sérum, sucre, insuline nous a paru tout à fait inactif.

III. — EN APPORTANT DU SÉRUM FRAIS nous avons pu sur certains sucres vérifier l'action des *ferments* normaux du sang et étudier l'influence de l'insuline sur ces ferments.

EXPÉRIENCE 14. — Etude du ferment glycolytique :

1^{er} Résultat. — Nous avons placé 20 heures à l'étuve :

Tube contenant sang défibriné : 20 cm³. Résultat : à la sortie de l'étuve, il n'y a plus trace de sucre.

Tube contenant sang défibriné : 20 cm³; glucose : 20 cm³ à 20 p. 1.000, eau : 2 cm³. A la sortie de l'étuve il reste : 0,233 de sucre.

Tube contenant sang défibriné : 20 cm³, glucose : 20 cm³, à 20 p. 1.000, insuline : 2 cm³. A la sortie de l'étuve il reste : 0 gr. 17 de sucre.

L'insuline a donc nettement activé ce phénomène.

2^e Résultat. — On place à l'étuve pour 18 heures :

Tube contenant glucose : 20 cm³ à 22 p. 1.000; sang défibriné : 20 cm³, eau 2 cm³. A la sortie de l'étuve on a 0 g. 305 de sucre

Tube contenant glucose : 20 cm³ à 22 p. 1.000, sang défibriné : 20 cm³; insuline : 2 cm³. A la sortie de l'étuve on a 0. gr. 235 de sucre. Là encore on a une activation très nette de la glycolyse par insuline.

3^e Résultat. — On place à l'étuve :

Tube contenant glucose : 40 cm³ à 22 p. 1.000; sang : 5 cm³; Insuline ou eau : 2 cm³.

Dans les deux cas on trouve après 6 heures d'étuve : 0 g. 78.

Ici on avait une forte dose de sucre pour peu de sang. On a laissé un temps assez court à l'étuve, l'insuline n'a pas agi.

Conclusion. — L'activation du ferment glycolytique par l'insuline est un phénomène qui semble gagner en intensité quand la concentration en sucre diminue.

EXPÉRIENCE 15. — *Etude du ferment maltolytique.* —

On a signalé un ferment maltolytique dans le sérum normal, nous l'avons spécialement recherché dans un sérum vieilli de chien normal. Ce sérum avait perdu tout son pouvoir glycolytique, il était cependant encore actif sur la maltose. Nous avons retrouvé le ferment maltolytique dans du sérum frais de cheval, enfin dans du sérum de diabétique. Nous avons toujours constaté qu'il est nettement activé par l'insuline, encore que cet accroissement d'activité fut toute chose égale d'ailleurs d'une grande variabilité.

1^{er} Résultat. — On place 20 heures à l'étuve le mélange suivant :

Maltose : 30 cm³ à 17 p. 1.000.

Sérum : 10 cm³.

Insuline : 2 cm³.

Après 20 heures d'étuve, nous trouvons au dosage Bertrand une solution qui, calculée en glucose, serait à 0,57 % ; au polarimètre, une solution qui, calculée encore en glucose, serait de 0,43 %, ce qui montre que la transformation dans ces conditions s'effectue à peu près en 20 heures.

Pendant la période intermédiaire on a un mélange de maltose non encore détruit et de glucose qui vient de se produire par hydrolyse du maltose. Or, le glucose est environ deux fois plus réducteur que le maltose :

40 millig. de glucose donnent : 77 millig. 5 de cuivre réduit.

40 millig. de maltose donnent : 44 millig. 1 de cuivre réduit.

La déviation du maltose est au contraire plus du double de celle du glucose : glucose = $+52^{\circ},5$; maltose = $+140^{\circ}$ donc, plus l'hydrolyse est avancée, plus la réduction est intense, moins grande est la déviation. Et les deux chiffres se rapprochent l'un de l'autre pour se confondre au moment où la transformation en glucose est complète.

Nous avons laissé à l'étuve, pendant 16 heures, les solutions suivantes. Voici nos résultats :

2^e Résultat. — On place à l'étuve : maltose 30 cm³ à 17 p. 1.000, Sérum 10 cm³, Insuline ou eau 2 cm³.

Témoin : au polarimètre : 1,26 % ; dosage Bertrand : 0,74 %.
Différence = 25.

Tube insuliné au polarimètre : 1,04 % ; dosage Bertrand : 0,8 %. Différence = 0,24. Donc, le ferment a été nettement activé par l'insuline.

3^e Résultat. — Placé dans les mêmes conditions, on obtient :

Témoin : au polarimètre : 1,26 % ; au dosage Bertrand : 0,80 %. Différence = 0,46.

Tube insuliné : au polarimètre : 0,98 % ; au dosage Bertrand : 0,81 %. Différence = 0,17.

4^e Résultat. — Les conditions sont encore semblables : on trouve :

Témoin au polarimètre : 1,30 % ; au dosage Bertrand : 0,76 %
Différence = 54.

Tube insuliné, au polarimètre : 1 % ; au dosage Bertrand : 0,85 %. Différence = 0,15.

Les résultats sont donc variables, quoique constamment positifs, et l'on ne peut affirmer que la constance de l'exagération du pouvoir maltolytique du sang par l'insuline, sans pouvoir préciser exactement dans quelle mesure.

EXPÉRIENCE 16. — Nous avons pu constater dans le sang la présence d'un ferment qui détruit les dextrines ; nous pensons que ce ferment n'avait point encore été signalé, car il n'en est pas fait mention dans les différents ouvrages consultés par nous. L'insuline est sans action sur l'activité de ce ferment.

Nous plaçons à l'étuve pendant 20 heures :

Dextrine à 20 p. 1.000 : 20 cm³.

Sérum : 20 cm³.

Insuline ou eau : 2 cm³.

Dans les deux cas nous avons une production de 40 milligrammes de corps réducteurs, calculés en glucose, pour 5 cm³ de ce produit débarrassé de ses albuminoïdes.

EXPÉRIENCE 17. — Nous avons étudié l'action d'un ferment du sérum normal qui détruit le glycogène, nous avons retrouvé ce ferment sur lequel l'insuline est également sans action.

Nous avons placé à l'étuve :

Glycogène : 40 cm³ à 20 p. 1.000.

Sérum : 20 cm³.

Eau ou insuline : 2 cm³.

On a 10 milligrammes de corps réducteurs calculés en glucose, après 20 heures d'étuve, dans les deux cas.

Ainsi il existe normalement dans le sang :

1° Un ferment glycolytique, sur lequel l'insuline a une action très variable.

2° Un ferment maltolytique, sur lequel l'insuline exerce une action toujours positive.

3° Enfin, deux ferments hydrolysant : l'un la dextrine, l'autre le glycogène, sur lesquels l'insuline est sans action.

Le ferment hydrolysant la dextrine n'avait pas été signalé avant nos recherches, nous croyons être les premiers à déceler sa présence dans le sérum.

IV. — NOUS AVONS ÉTUDIÉ L'ACTION DE L'INSULINE SUR LES SUCRES EN PRÉSENCE D'UN CERTAIN NOMBRE D'ORGANES.

EXPÉRIENCE 18. — On a mélangé et porté à l'étuve :

2 grammes de poumon frais broyé.
20 cm³ de glucose à 20 p. 1.000.
2 cm³ d'insuline ou 2 cm³ d'eau.

On trouve pour le témoin : au polarimètre 1,37 %, au dosage Bertrand : 1,56 %.

Pour le ballon insulé : au polarimètre, 1, 2 % ; au dosage Bertrand 1, 22 %. En tenant compte de la difficulté de l'expérience, on doit considérer ces résultats comme négatifs.

EXPÉRIENCE 18. — Même expérience avec du galactose. Le témoin donne au polarimètre : 1,26 %; au dosage Bertrand : 1,46 %.

Le ballon insulé donne au polarimètre : 1,36 % ; au dosage Bertrand : 1,40 %. On doit donc là encore considérer ce résultat comme négatif.

EXPÉRIENCE 19. — Nous avons réalisé un foie lavé suivant la technique de Claude Bernard, ce foie bien débarrassé de son sucre et de son glycogène, a été haché finement et mélangé avec divers sucres et de l'insuline.

On porte à l'étuve un mélange de : glucose 20 cm³ à 20 p. 1.000; foie 10 cm³; insuline ou eau 2 cm³.

On doit, après avoir déféqué, retrouver pour 10 cm³ du mélange 250 millig. de sucre. Or, on trouve : témoin 47 millig. Insulé 45 millig.

EXPÉRIENCE 19. — A ce mélange, nous avons ajouté du sérum. Nous portons à l'étuve : le mélange : sérum : 10 cm³, glucose 20 cm³ soit : 0 gr. 80; foie : 10 cg; insuline ou eau : 2 cm³. Après défécation on doit avoir pour 10 cm³ 100 millg. de sucre. On a en réalité : témoin : 43 mill. Insulé : 50 millig. On voit que le foie lavé mis en présence de sucre agit sur celui-ci pour le faire disparaître, l'insuline n'a aucune action sur ce phénomène, connu depuis Cl. Bernard.

Nous avons enfin songé à étudier l'action des PHOSPHATES qui jouent un rôle si considérable dans le métabolisme des hydrates de carbone. Nous avons adopté les deux modes opératoires suivants :

EXPÉRIENCE 20. — On place à l'étuve pendant 20 heures un tube contenant : glucose : 20 cm³ à 20 p. 1.000; phosphate dissodique : 10 cm³ (solution à 2 %); Insuline : 2 cm³. Après défécation, on retire pour le dosage une quantité qui, théoriquement, doit donner 50 millig. de glucose. On trouve 51 millig. Une expérience témoin faite avec de l'eau donne le même chiffre qu'avec le tube insulé.

EXPÉRIENCE 20. — Nous plaçons dans les ballons : glucose à 20 p. 1000 : 20 cm³; phosphate dissodique à 2 % : 10 cm³; sérum : 10 cm³ ; eau ou insuline 10 cm³. On a, dans les deux cas, prélevé une quantité qui doit contenir 50 milligrammes de glucose, on trouve dans les deux tubes témoins et insulés 51 milligrammes. On en conclut que l'insuline se montre inactive dans ces conditions.

On verra le rôle considérable que joue les éthers hexosesphosphoriques dans le métabolismes des hydrates de carbone chez l'animal comme chez le végétal. Nous avons pensé devoir étudier l'action de l'insuline sur le glucose en présence de ce corps. Un échantillon dû à l'obligeance de M. le Docteur Sarvonat, fut utilisé pour cette expérience.

EXPÉRIENCE 21. — Nous plaçons à l'étuve deux ballons contenant : acide hexose-phosphorique 20 cm³ ; insuline ou eau, 2 cm³. Dans les deux cas, nous trouvons 1 cm³ de MnO₄ K à 5 gr. p. 1.000, ce qui correspond à une dose de sucre tout à fait négligeable, étant donné que l'acide hexose-phosphorique est lui-même doué d'un pouvoir réducteur marqué.

L'insuline et le métabolisme des hydrates de carbone.

La plante réalise la synthèse de l'aldéhyde formique en combinant l'anhydride carbonique qu'elle puise dans l'air, à l'eau qu'elle absorbe au niveau du sol. Les rayons chimiques de la lumière solaire sont les agents de cette synthèse. L'aldéhyde formique se polymérise et il en résulte des sucres et des hydrates de carbone complexes. Une partie de ceux-ci (les celluloses et les hémicelluloses) constituent le squelette de la plante enveloppant d'une membrane aux formes géométriques les cellules végétales. Une autre partie constitue des réserves énergétiques : réserves de glycogène colloïdal chez le végétal inférieur, de grains d'amidon chez le végétal supérieur.

Ainsi, chez la plante, les molécules complexes d'hydrate de carbone constituent un élément aussi plastique qu'énergétique. Ces réserves se consomment peu à peu pendant la vie, la respiration et l'exhalation cutanée

laissent échapper l'anhydride carbonique de l'eau, termes ultimes de leur combustion. Au cours de ces destructions endocellulaires, nous voyons déjà apparaître des éthers hexoses-phosphoriques que nous retrouverons comme un des éléments primordiaux du catabolisme des hydrates chez l'animal.

Enfin, le végétal une fois mort, aboutit, brûlé plus ou moins vite par les microorganismes du sol, à l'eau et à l'anhydride carbonique et le cycle se trouve fermé.

Mais l'herbivore utilise le végétal pour sa nourriture et sous l'action de ses sucs digestifs, les molécules végétales complexes se scindent et se présentent finalement au niveau des villosités absorbantes sous trois formes de monosacharide (glucose, galactose, levulose) et sous la forme d'un disacharide : le maltose. Ces divers sucres sont absorbés et passent dans le sang. Le foie les arrête, les polymérise et les met en réserve sous forme de glycogène, puis, au fur et à mesure des besoins, les déverse dans le sang qui les transporte dans les différents territoires de l'économie. Au niveau des muscles, le glucose circulant rencontre l'acide phosphorique, se combine avec lui et de cette union résulte un éther ; l'acide hexose-monophosphorique ou *lactacidogène* qui se détruira en donnant deux sous-produits : l'acide phosphorique régénéré et de l'acide lactique. Cette destruction exothermique libère l'énergie nécessaire à la contraction musculaire. Cependant, du sucre circulant peut s'unir aux protéines ; c'est une sorte de « glucose protéidique » que nous aurons à étudier ultérieurement. Ainsi, chez l'animal, les hydrates de carbone constituent le substratum des réactions

qui assurent la transformation de l'énergie chimique en énergie thermique et mécanique.

Notons en passant, une forme plastique des hydrates de carbone chez les arthropodes : la chitine, dérivée de la glucosamine, qui constitue la plus grande partie de la carapace de ces animaux.

Des agents nombreux réalisent ces transformations, qu'il s'agisse de synthèses ou de simplifications moléculaires. Une hormone que nous allons retrouver très répandue dans les deux règnes, semble dominer le métabolisme animal comme elle règle le métabolisme végétal des hydrates de carbone. C'est, d'une part, l'*insuline animale*, et de l'autre, la *glucoquinine végétale*.

Nous allons montrer tout d'abord son existence, rechercher son origine, puis nous nous appliquerons à découvrir la phase de ces transformations au cours de laquelle l'insuline exerce son action.

**Un principe hypoglycemiant se trouve
chez tous les êtres vivants
qui utilisent les hydrates de carbone.**

Chez les mammifères, c'est le pancréas qui s'est différencié en vue de la production de ce principe. Le fait en est démontré jusqu'à l'évidence par une série d'expériences classiques. L'ablation du pancréas réalisée pour la première fois, en 1889, par Raphaël Lépine, (56-57), en France, et Minkowski, en Allemagne, (59-60), fut définitivement réglée dans sa technique opératoire par Hédon, en 1910 (50). Après ablation du pancréas, on note une augmentation considérable du taux du sucre libre dans le sang qui peut atteindre alors 5 grammes par litre, une augmentation immédiate de la glycosurie qui atteint 3 grammes en 24 heures par kilogramme d'animal. Elle persiste, malgré le jeûne, jusqu'à la mort de l'animal. On note encore la polyurie, la polydypsie, la polyphagie, qui sont les symptômes complémentaires de ce diabète expérimental.

Cependant, si plus de 8 grammes de glande sont laissés en place, ce phénomène ne se produit pas (56). Inversement, l'excitation des nerfs du pancréas produit de l'hypoglycémie (55). Il s'agit bien d'une sécrétion interne car une greffe pancréatique permet d'éviter ces accidents chez le chien pancréatectomisé (49-60). D'autre part, la ligature des veines pancréatiques est suivie

d'une glycosurie marquée (48), de même que l'injection du sang de veine pancréatique réduit la glycémie chez l'animal opéré (51). Enfin, il est possible en suivant les techniques que nous avons indiquées (p. 19), d'extraire de la glande un produit actif hypoglycémiant : l'insuline.

Ce produit a permis de réaliser une longue survie chez le chien pancréatectomisé (52), il constitue donc au moins une des parties essentielles de la sécrétion interne du pancréas. La preuve directe en fut donnée chez les mammifères, qui normalement ont un pancréas à sécrétion interne facilement isolable (63-64). A un taux beaucoup plus faible, la substance active se retrouve dans les divers organes. C'est dans le sang de la grande circulation (45), (37-40-61), dans la lymphe (54), (39), dans le corps thyroïde, dans la muqueuse gastro-duodénale (53), dans le rein (36), dans le poumon (36), qu'elle a été souvent décelée, grâce à des techniques délicates. Après pancréatectomie, le principe actif disparaît rapidement de ces organes (36). Il semble donc qu'il y soit non pas formé, mais importé du pancréas, sa seule source véritable chez le mammifère.

C'est encore chez l'oiseau, le reptile, le batracien, le poisson (58), que la présence de l'insuline a été signalée. Chez tous ces vertébrés, elle semble sécrétée par une glande homologue du pancréas des mammifères. Réciproquement, l'action de l'insuline a été étudiée dans toute la série des vertébrés par Sordelli (65). Elle va en décroissant à mesure que l'on descend dans la série, elle est à peine sensible chez le batracien. Houssay et Rietti (53) viennent de publier des résultats concordants sur ce sujet avec ceux de Sordelli. Chez les petits caï-

mans (*caïmans sclerops*) on note après une injection d'insuline une hypoglycémie marquée. Celle-ci n'apparaît que trois jours après l'injection, mais dure 8 à 10 jours.

Chez les batraciens (grenouilles, crapauds) l'action est aussi tardive et aussi prolongée que chez les reptiles. Elle aboutit à des convulsions et à la mort. Chez les poissons enfin, (*Pimelodus*, *Pledonomus*) cinquante unités par kilogr. d'animal n'ont amené qu'une baisse très légère de la glycémie.

Chez les invertébrés (43) sa présence a été signalée chez un lamelibranche syphonidé : la *mya arenaria*.

Chez la plante, il existe un principe hypoglycémiant mis en évidence par Collip dans le bulbe d'oignon, les feuilles de laitue et chez un grand nombre d'autres phanérogrammes (42). Enfin, Hutchinson, Smith et Winter (53) ont retrouvé ce même principe dans le jus de levure et dans le bouillon de culture d'un microbe qui rappelle morphologiquement le colibacille. Le principe végétal est hypoglycémiant pour le lapin, Collip l'a désigné sous le nom de : *glucoquinine*. Il y a donc là un phénomène d'une extrême généralité ; encore qu'en s'adaptant au milieu pour lequel il doit fonctionner normalement, il semble se modifier légèrement. C'est ainsi que l'extrait végétal, s'il agit sur le lapin, ne le fait pas de la même manière que le produit d'origine animale. Son action est plus lente et plus prolongée. Il y aurait donc une certaine spécificité biologique d'un principe dont l'action est, par ailleurs, très générale.

Le cycle des hydrates de carbone dans l'économie animale ; le rôle de l'insuline.

Les hydrates de carbone de l'alimentation après avoir subi une dislocation moléculaire sous l'action des ferments digestifs donnent finalement du glucose, du galactose, du levulose, du maltose.

Certains constituants de la molécule albuminoïde : glycocolle, alanine, acide glutamique, pourraient aussi fournir du glucose (Loewy, Lusk, Schaffer). Il en serait de même de la glycérine et de certains acides gras (Kahn).

L'absorption va introduire dans le sang les différents sucres. Mais si l'on injecte dans les veines d'un animal, du glucose, du galactose, du lévulose ou même du maltose, aucun de ces sucres ne se retrouve dans l'urine. Au contraire, les autres sucres (saccharose, lactose, etc.) passent immédiatement à travers le rein (Arthus).

Grâce au barrage hépatique, les variations de la glycémie sont minimales, même après injection de grosses doses d'hydrate de carbone. Il n'est donc pas possible de se rendre compte de l'action de l'insuline sur l'absorption des sucres par le dosage de ceux-ci dans le sang de la grande circulation. Il conviendrait d'examiner le sang de la seule veine-porte, ce qui n'a point été fait (75).

Le sang contient de nombreux hydrates de carbone, les uns, réducteurs de la liqueur de Fehling, les autres, sans action sur ce réactif. Ces derniers peuvent être les polymères du glucose tel que le glycogène qui pour réduire la liqueur cupro-potassique doit être d'abord hydrolysé, mais ils peuvent être aussi des combinaisons du glucose avec des protéines du sang ; combinaisons qui devront être détruites si l'on veut libérer le glucose et le doser par réduction (A. Lépine). Etudions ces différentes modalités.

Comme élément réducteur, le sang contient principalement du *glucose*. De 30 litres de sang de cheval, Hanriot (79), après des purifications multiples a obtenu 6 grammes d'une substance « donnant au saccharimètre et au titrage par réduction des chiffres concordants », et qu'on peut facilement convertir en parachloralose, fusible à 227°, ce qui, pour cet auteur, caractérise le glucose. Ce corps constitue donc la plus grande partie du sucre circulant.

Mais si la formule brute du glucose est admise par tous les chimistes, l'accord est moins facile sur sa formule développée. Elle fut d'abord écrite :



Mais bientôt pour trois raisons :

1° La disparition du pouvoir réducteur dans les pentacétales et pentabenzates, le glucoside.

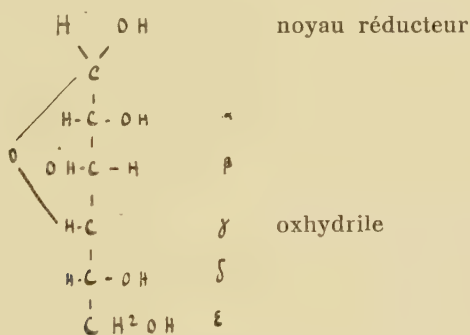
2° l'apparition d'une nouvelle isomérisie pour le pentacétate, le pentanitrate, le méthyl-glucoside.

3° Enfin, l'obtention par Tanret, d'un glucose à faible pouvoir rotatoire.

Les chimistes ont été amenés à concevoir une formule du glucose où se trouve un nouvel atome de carbone asymétrique : celui de la fonction réductrice. D'autre part, on conçoit la possibilité d'un grand nombre de stéréoisomères selon la position du noyau oxhydrique en α , β , γ , δ , ϵ , et pour chacun de ces types deux sous-divisions sont possibles selon la disposition du noyau réducteur. En fait, on connaît deux de ces glucoses, on en soupçonne un troisième.

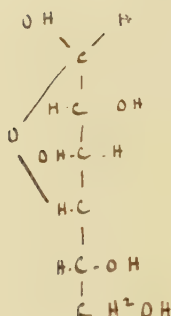
I) Deux glucoses, dont l'oxhydrile est en γ sont obtenus facilement. Ils diffèrent par la disposition de leur noyau réducteur.

a) Le glucose α dont le pouvoir rotatoire est 110° environ, qui peut s'écrire :



Glucose « oxyde de butylène ».

b) Le glucose β dont le pouvoir rotatoire est de 20° , a été obtenu par Tanret, il peut se formuler :

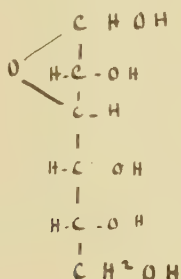


Glucose « oxyde de butylène ».

Si l'on dissout un de ces glucoses dans l'eau, le pouvoir rotatoire initial se transforme jusqu'à atteindre le chiffre de 52°.5, ce qui montre la transformation du glucose α en β et réciproquement ; jusqu'à l'obtention d'un équilibre auquel correspond le pouvoir rotatoire 52°,5.

2) Lorsqu'on traite le glucose en solution dans l'alcool méthylique anhydre par une faible quantité de gaz chlorydrique à la température d'ébullition du liquide ou en tubes scellés, il se forme un mélange de méthylglucosides α et β . Dans cette réaction, on obtient encore un troisième méthylglucoside différent des deux premiers. Fischer (78) l'a extrait ; mais il n'a pu l'obtenir à l'état cristallisé. Il l'a appelé méthylglucoside γ . Malheureusement, le glucose γ qui lui correspond est très instable et de l'hydrolyse du méthylglucoside γ on n'isole que du glucose ordinaire. La formule du glucose γ , dont on connaît seulement le dérivé méthylé, doit, selon Irvine, posséder son oxhydrile en position β .

c'est l'oxyde de propylène, opposé ainsi aux glucoses α et β qui sont des oxydes de butylène.



Glucose « oxyde de propylène ».

Peut-on classer le glucose du sang parmi ces glucoses connus des chimistes ?

Un fait domine toutes les discussions soulevées à ce sujet : *les chiffres fournis par les dosages réducteurs du sucre du sang sont plus élevés que ceux fournis par les dosages polarimétriques*. Signalée, par Hédon (80), retrouvée maintes fois par Raphaël Lépine (86), cette différence a fait récemment l'objet d'une étude approfondie de la part de Winter et Smith (99-100). Le phénomène n'est pas constant. Mozotowski (91), opérant sur du sang de bœuf, de cheval, de mouton, de lapin, d'hommes et traitant ce sang selon la méthode de Winter, n'a pas confirmé ces différences. Van Creveld, de même (72).

Un second phénomène accompagne le premier, *c'est la mutarotation* ou transformation du pouvoir rotatoire

anormal en un pouvoir rotatoire correspondant au dosage réducteur au bout de quelques jours de séjour du sang à l'étuve. Donc, deux faits, d'ailleurs inconstants, ont été observés :

1° Dissociation cupro-polarimétrique.

2° Phénomènes de muta-rotation.

Au contraire, chez le diabétique, Winter et Schmit n'auraient pas retrouvé ces deux particularités. D'après ces auteurs, elles réapparaîtraient chez le diabétique traité par l'insuline (99).

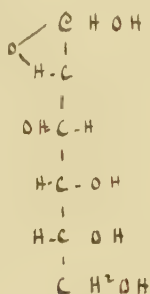
Néanmoins, devant l'inconstance des résultats des auteurs ces deux dernières observations perdent de leur importance.

Trois hypothèses ont surgi des faits observés, toutes tendent à expliquer la dissociation et la mutarotation du sucre sanguin.

1° Raphaël Lépine pense qu'à côté du glucose dextrogyre, il existe dans le sang une substance lévogyre, dont on ne peut se débarrasser que par de très nombreuses purifications. Il ignore sa constitution, mais il pense qu'il ne s'agit ni du levulose, ni d'un conjugué lévogyre de l'acide glycuronique.

2° Winter et Schmit (99) proposent une seconde hypothèse très séduisante en apparence, mais qui semble chaque jour moins probable. Pour ces auteurs, le glucose du sang normal n'est pas un mélange de glucose α et β qui, en solution donnerait une rotation de $52^{\circ},5$, correspondante au dosage réducteur ; c'est un autre glucose, probablement le glucose γ .

Cooper avait déjà donné (68) une formule cyclique du glucose sanguin :



C'est la formule du glucose « oxyde d'éthylène », c'est aussi celle indiquée tout d'abord par Irvine pour caractériser le glucose γ . Depuis, cet auteur constatant l'impossibilité d'écrire le glucose monoacétone avec cette formule de glucose γ , l'a modifiée, transportant l'oxhydrile d' α en β , et a donné la formule de glucose « oxyde de propylène que nous avons écrite plus haut. Quoi qu'il en soit, dans cette hypothèse, le sujet diabétique aurait dans son sang un mélange de glucose α et β . Or, seul le glucose γ est utilisable, d'où l'impossibilité pour les diabétiques d'utiliser leur glucose, mais l'insuline qui transforme le glucose α et β en glucose γ leur rendrait ce pouvoir. A l'appui de cette hypothèse, Slosse (98) d'une part, Iscovesco de l'autre, ajoutent deux expériences : *in vitro*, après quelques heures d'é-tuve, l'insuline fait naître dans une solution ordinaire de glucose un phénomène de dissociation cupropolari-métrique. Macléod (69) et son école qui ont étudié *in vitro* l'action de l'insuline sur le glucose, n'ont pas signalé ce phénomène. Nous avons répété cette expérience et n'avons pas trouvé, non plus, cette dissociation. Nous

avons toujours, au préalable, déféqué les albuminoïdes introduites par notre insuline, alors que Slosse examine au polarimètre le mélange sucre-insuline, il est vrai que cet auteur s'est, dit-il, assuré au préalable de l'inactivité optique de son insuline.

La critique de cette hypothèse a été, d'ailleurs, très judicieusement présentée par Hewit (140) ; cet auteur montre que dans les expériences de Winter : 1°) aucun compte n'était tenu des agents microbiens pouvant se développer pendant le temps de contact à l'étuve. 2°) les opérations comportent cinq temps :

a) Précipitation avec l'acide tungstique. Etant donné la labilité du glucose γ celui-ci doit certainement être affecté par cet acide.

b) Chauffage à 40° qui doit lui aussi hater la mutarotation d'un système qui n'est pas en équilibre.

c) addition d'alcool éthylique et propylique et contact avec ces alcools pendant 20 minutes. Or, la caractéristique du glucose γ est de donner un glucoside avec l'alcool. S'il existe dans le sang ce temps doit sûrement altérer le glucose γ

d) Concentration à froid.

e) Stabilisation par trois jours de contact.

Comme on le voit, la technique même de ces auteurs est critiquable, et cette hypothèse ne peut être retenue sans réserve.

3°) Enfin, Richaud et Coire (97) ont présenté récemment une hypothèse beaucoup plus simple. Ils ont montré que ces phénomènes de dissociation et de mutarotation se produisent chaque fois que du glucose est mis en présence d'un corps albuminoïde complexe (extrait

duodénal par exemple). Aussi, pensent-ils qu'il s'agit d'une combinaison protéidique du glucose, douée d'un pouvoir rotatoire élevé, et comme la molécule albuminoïde est beaucoup plus lourde que celle du sucre combiné, on ne constaterait pour le glucose qu'une très légère diminution au Féhling.

De toute cette discussion, il convient cependant de retenir : que le glucose du sang pourrait bien se trouver dans cette humeur sous une forme cyclique. Quoi qu'il en soit, le glucose sanguin n'a pas paru dans nos expériences devoir être influencé directement par l'insuline.

Ferment glycolytique.

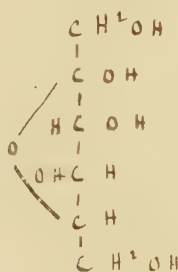
Il existe dans le sang un ferment glycolytique mis en évidence par les travaux de Raphaël Lepine (85). MM. Hugounenq et Doyon (81) ont montré qu'il ne fallait pas le confondre avec le produit de sécrétion pancréatique. Raphaël Lépine, Aronssohn, Mme Sieber ont essayé d'isoler ce ferment (86). On a obtenu trois enzymes glycolytiques. La glycolyse subit, *in vitro*, diverses influences : l'alcalinité l'active, son maximum d'action se trouve vers un $\text{PH} = 8$.

L'action de l'insuline sur la glycolyse *in vitro* a été étudiée par divers auteurs. Les résultats les plus divergents ont été obtenus. Déjà, Raphaël Lépine et Boulud avaient mélangé du suc de macération de pan-

créas à du sang riche en sucre de chien dépancréaté. Une seule fois, l'expérience fut positive, toutes les autres fois, les résultats « n'étaient pas d'une netteté absolue ».

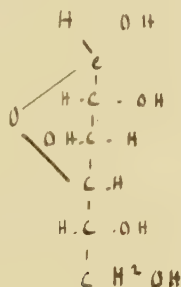
Lépine et Barral ont encore montré que le sang du chien dépancréaté avait une héméglycolyse diminuée (84). Il en est de même chez l'homme diabétique. Depuis la découverte de l'insuline, cette étude a été reprise par plusieurs auteurs, leurs résultats sont à peu près tous négatifs (92) (74). Seuls, Bierry et Rathéry ont noté une action favorable de l'insuline sur la glycolyse, mais elle est très légère, de l'ordre du décigramme (66). On a pu voir que les résultats que nous avons obtenus étaient contradictoires d'une expérience à l'autre. *On peut donc conclure que l'insuline n'agit pas en activant le ferment glycolytique.*

Le sang contient d'autres sucres réducteurs : le levulose doit exister dans le sang, car il est absorbable et existe dans quelques-uns de nos aliments (miel) ou se forme par l'hydrolyse de quelques autres (inuline).



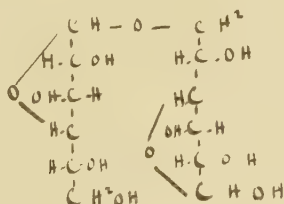
En traitant l'extrait de sang par l'éther acétique alcoolisé on peut déceler directement le levulose par la production de fines aiguilles de lévulosates de calcium. On

ignore l'action *in vitro* de l'insuline sur ce sucre. On a cependant montré que, chez le diabétique, l'action, de l'insuline est plus sûre si on alimente le malade avec du lévulose (73) ou du levulose et des vitamines B (76). Pour les mêmes raisons, le *galactose* doit se trouver dans le sang :



Nous avons étudié *in vitro* l'action de l'insuline sur ces sucres. On a pu voir que nos expériences montrent sa complète inactivité.

Plus intéressant est le *maltose* qui se forme en grande quantité dans le tube digestif par hydrolyse des amyloses :



On soupçonne sa présence dans le sang (71).

Il s'y trouve en présence d'un ferment *maltolytique*. Nous avons montré l'action favorisante de l'insuline

sur ce ferment. Nous devons signaler que nos résultats sont en contradiction avec l'observation de Macleod qui n'a pu diminuer les phénomènes hypoglycémiant de l'insuline par injection de maltose (96).

Il existe enfin dans le sang, à titre accidentel, du saccharose (87) et des pentoses. Lépine et Boulud ont constaté de faibles quantités d'acide glycuronique.

Mais, des hydrates de carbone plus complexes se trouvent dans le sang circulant : *la dextrine* se rencontre peut-être dans certaines conditions, nous avons montré l'existence dans le sérum d'un ferment qui détruit cette dextrine, et sur lequel l'insuline est sans action. Le *glycogène* qui se trouve dans le sérum en petite quantité (15 millig. par litre, selon Hupert). Un ferment détruisant ce glycogène se rencontre aussi dans le sang. Nous avons montré que l'insuline n'active pas ce ferment.

Mais tout le sucre du sang ne se trouve pas à l'état libre dans ce milieu. *Une bonne partie est combinée.* C'est Raphaël Lépine qui montra le premier que des échantillons de sang prélevés sur la même ondée sanguine au niveau du ventricule droit et dans la carotide d'un chien traumatisé donnait des quantités de sucre différentes au Féhling. Les organes traversés par cette ondée depuis le ventricule jusqu'à la carotide sont pauvres en glycogène. Or, du sucre est apparu pendant ce parcours, il a donc fallu que ce soit le sang lui-même qui l'ait libéré d'une combinaison pour en faire du sucre réducteur. Chez l'animal inférieur, le sucre combiné constitue souvent la forme normale de la glycémie. Chez l'escargot, M. Couvreur (70) a montré que le sang ne contient du sucre que pendant quelques mois d'hiver

et cela en quantité minime ; par contre, M. Morel a constaté la présence d'un sucre réducteur dans l'extrait de sang, de cet animal, chauffé en présence d'acide fluorhydrique (90). Chez le mammifère, on admet qu'il s'agit de *sucre protéidique* et Nitzescu pense qu'il représente 45 % du sucre libre (93).

Quelle est l'action de l'insuline sur ce sucre protéidique ? Les faits suivants semblent acquis :

1° Après pancréatectomie, on a une augmentation du sucre protéidique (92).

2° Si l'on injecte de l'insuline à l'animal dépancréaté ce sucre protéidique croît encore pendant deux heures (92-67-93).

3° Mais dans une deuxième phase il décroît (92-93) et cinq heures après l'injection, tombe à un taux inférieur au point initial. Il diminue néanmoins plus lentement que le sucre libre. Cette chute secondaire permet de rejeter l'hypothèse de Bierry pour lequel l'hyperprotéidoglycémie primitive serait l'origine de l'hypoglycémie insulique. Il vaut mieux, avec Nitzescu, penser que tout se passe comme s'il s'agissait d'une réserve qui au moment de la chute du sucre libre tend à se renforcer, puis devant la persistance du phénomène s'épuise.

Il semble donc bien qu'en dépit des efforts faits par les auteurs pour trouver dans le sang la cause de l'hypoglycémie insulique, aucun résultat probant n'ait été fourni, et que c'est ailleurs qu'il convient de chercher son explication.

Le foie et l'insuline.

Les différents tissus animaux contiennent presque tous un hydrate de carbone complexe, polysaccharide colloïdal : le glycogène. La ptyaline le digère en donnant du maltose, le tissu hépatique peut l'hydrolyser en produisant du glucose et du maltose, les acides l'invertissent en donnant de la dextrine.

Le foie contient une proportion considérable de glycogène. Après ablation de cet organe, l'animal opéré meurt en hypoglycémie, ce qui montre bien qu'il existe au niveau du foie, une réserve très importante que ne peut compenser le glycogène réparti dans le reste de l'organisme.

D'où provient ce glycogène hépatique ? Il est formé en grande partie par le glucose du sang circulant. Les circulations de sang défibriné, glucosé, font apparaître du glycogène dans le foie d'animaux ayant épuisé leurs réserves par un jeûne prolongé. Récemment Brenckman (104) a repris cette expérience sur des foies de chien, de lapin et de tortues, avec du liquide de Ringer glucosé à 5 % et du sang défibriné, il a noté une très forte augmentation du glycogène hépatique. Mais, de l'insuline, ajoutée au liquide de perfusion, n'a pas augmenté la quantité de glycogène formé ; l'auteur a même noté une légère diminution. La possibilité, pour le foie, de fabriquer du glycogène avec le fructose, le

galactose ou le maltose est incertaine. Enfin, le glycogène peut encore être formé aux dépens des albuminoïdes et peut-être aussi des graissés (106). L'action de l'insuline sur ces dernières transformations n'a pas été étudiée.

Au fur et à mesure des besoins de l'organisme, le glycogène du foie se transforme en glucose. La célèbre expérience de Claude Bernard (105), dite du foie lavé, le montre jusqu'à l'évidence. On sait que l'agent de cette transformation est détruit par la chaleur. Le foie constitue ainsi une réserve considérable de glucose pour l'organisme. Récemment, Mann et Magath (108) ont pu, selon une technique opératoire nouvelle, réaliser l'ablation du foie chez le chien. La veine cave, toujours intéressée dans cette hépatectomie, créait la grosse difficulté opératoire. Grâce à une fistule d'Eck, et à des ligatures en plusieurs temps, ces auteurs ont réussi à développer un réseau pariétal d'anastomoses entre les deux systèmes caves qui leur ont permis après guérison de l'animal, dans un deuxième temps, d'enlever totalement la glande hépatique. Ils ont alors observé une hypoglycémie accompagnée de convulsions qui disparaissent si l'on injecte du glucose dans les veines de l'animal. Ce fait montre bien que l'hypoglycémie est à l'origine des phénomènes convulsifs. Cette même hypoglycémie a été retrouvée après l'ablation du foie chez l'oie. Minkowski l'avait déjà montrée sur différents poissons, sur la tortue et sur la grenouille. C'est donc un fait établi : la glande hépatique constitue dans la série des vertébrés une réserve de sucre à laquelle rien ne peut être substitué dans l'organisme.

Mann et Magath, après avoir provoqué une hyperglycémie par ablation du pancréas chez le chien pratiquent l'hépatectomie. La glycémie tombe rapidement et les accidents d'insuffisance apparaissent à un taux de sucre sanguin beaucoup moins bas qu'après la seule ablation du foie. Il ne semble pas cependant qu'il faille conclure de cette expérience que le pancréas agit sur la glycémie par l'intermédiaire du foie, comme on serait tenté de le faire si cette expérience était isolée. Nous verrons que le pancréas favorise la destruction des sucres. Après pancréatectomie, il y aura donc accumulation de ceux-ci car leur écoulement sera minime, mais si l'on supprime le foie, c'est-à-dire leur réserve principale, si léger qu'il puisse être, cet écoulement suffira pour amener une chute de la glycémie. La réalité de ce mécanisme est démontrée par une expérience capitale réalisée par Mann et Magath. Chez le chien, l'abaissement du taux du sucre succède à l'injection d'insuline même après l'ablation du foie, si l'on a soin de pratiquer cette injection avant que l'hépatectomie n'ait amené une hypoglycémie pour son propre compte.

D'autre part, Aron (103) a montré que chez la chienne gravide, presque à terme, on peut pratiquer la pancréatectomie sans amener aucun accident, le pancréas du fœtus sécrétant un produit qui passe dans le sang de la mère et empêche l'hyperglycémie. Or, si l'on donne à cette chienne une nourriture très riche en hydrates de carbone, il ne se constitue pas pour cela une importante réserve de glycogène hépatique.

Il semble donc bien que l'insuline n'agisse pas plus sur la formation du glycogène que sur sa destruction.

Le catabolisme des hydrates de carbone et l'insuline.

Chez la femelle en lactation le sucre de l'organisme est en partie utilisé au niveau des mamelles pour la constitution du lactose. L'insuline agit peu sur cette transformation, car si les auteurs ont noté une légère diminution du *lactose* après administration d'insuline à la femelle en lactation, ils ont toujours trouvé une disproportion considérable entre cette diminution et l'abaissement du glucose sanguin (158).

Ce fait un peu particulier étant mis à part, il convient d'étudier à présent, les transformations que subissent les molécules d'hydrates de carbone complexes pour aboutir aux molécules très simples qui sont éliminées. Ces mutations successives que vont subir les sucres ont été longtemps inconnues. Seuls, les points de départ (glucose et glycogène du muscle) et les termes de ces transformations avaient été déterminés jusqu'aux belles recherches d'Embden et de son école.

Aujourd'hui, nous connaissons mieux les termes de

ce métabolisme. Le glucose se polymérise au niveau du muscle et donne naissance à des hydrates complexes, probablement du glycogène, ce glycogène se combine à l'acide phosphorique organique présent pour constituer un corps appelé *lactacidogène*, lequel est un éther hexosemonophosphorique de formule :



Celui-ci est bientôt brûlé et dédoublé en acide lactique et acide phosphorique libre. L'acide lactique est partiellement oxydé et peut être partiellement retransformé en glucose. Voyons en détail ces différentes transformations et essayons de déterminer l'action de l'insuline sur chacune d'elles.

I. — *Le glucose donné au niveau du muscle un hydrate de carbone complexe qui sera l'origine du lactacidogène*, le glucose étant incapable de produire directement celui-ci. En effet, Laquer a montré (142) *in vitro* que le mélange d'une purée de muscles avec des phosphates et du glycogène, de l'amidon, ou un éther hexosephosphorique donne naissance, après un séjour à l'étuve, à de l'acide lactique. Ces hydrates de carbone ont donc servi à la constitution d'un corps qui engendre de l'acide lactique dans le muscle, c'est le lactacidogène. Au contraire, la même expérience réalisée non plus avec du glycogène, mais avec du glucose, du levulose, ou du maltose ne donne qu'une quantité infime d'acide lactique. Il n'y a donc pas eu dans cette deuxième expérience production de lactacidogène. Donc, c'est tout d'abord par une polymérisation du glucose

que doit commencer ce métabolisme. Sur cette transformation, l'insuline semble peu active. Dudley a montré que l'hypoglycémie insulique s'accompagne de la disparition du glycogène du muscle et non de sa mise en réserve (124).

II. — *Ces hydrates de carbone vont se combiner à de l'acide phosphorique pour donner naissance au lactacidogène.* Tout d'abord, il existe dans le sang et le muscle de l'acide phosphorique sous trois états : acide non organique ; acide combiné au lactacidogène ; acide phosphorique organique n'entrant pas dans la constitution du lactacidogène, c'est « l'acide phosphorique organique restant ».

Le plasma renferme 14 milligr. 4 % d'acide libre et pas de phosphore organique. Les globules renferment du phosphore organique, mais pas d'acide libre (119). Le muscle renferme l'acide phosphorique sous ces trois états. Lorsqu'il se forme du lactacidogène, l'acide phosphorique organique restant s'épuise (148-161-129). C'est ainsi que le muscle blanc qui se fatigue vite, contient peu de reste d'acide phosphorique organique, alors que le muscle rouge qui peut travailler longtemps sans s'épuiser en contient beaucoup plus. De même, le pigeon qui vole à grand coup d'aile et se fatigue peu en contient plus dans ses pectoraux que le poulet qui vole à coup d'aile rapide mais s'épuise vite. *Il existe donc sous une forme organique autre que le lactacidogène, un acide phosphorique dans le muscle et dans le sang. Cet acide constitue une réserve non immédiatement assimilable qui attend sa transformation en lactacidogène.*

III. — *Cette transformation se réalise par la combinaison de cet acide avec les hydrates donnant naissance au lactacidogène.* Ce corps fut extrait du muscle pour la première fois par Embden (134). Il est à présent bien connu grâce aux études d'Embden et de Robison. Ce dernier a isolé un éther hesosemonophosphorique : $C^6 H^{11} O^5 (P O^4 H^2)$ du jus de levure de bière (160). Embden a montré que le lactacidogène n'était autre que cet éther.

Les muscles blancs sont plus riches en lactacidogène que les muscles rouges. La température extérieure agit sur la production de ce composé : les grenouilles d'été en contiennent beaucoup plus que celles d'hiver. D'autre part, plaçant à l'étuve vers 25° des grenouilles d'hiver, on obtient après quelques jours une notable augmentation du lactacidogène de leurs muscles. Elles présentent alors des mouvements plus rapides (111-161). Ces variations se produisent alors que l'énervation de la région étudiée a été réalisée au préalable, le rôle du système nerveux est donc nul dans cette production.

L'insuline semble agir sur ce phénomène. En effet, sous son action, le phosphate du sang diminue (162-118). L'acide lactique augmente, mais surtout on note une augmentation du lactacidogène.

Audova et Wagner ayant prélevé des gastrocnémiens de lapin avant et après insulínisation, ont vu au moment où commencent les convulsions, une remarquable augmentation de la teneur en lactacidogène dans ces muscles (115).

IV. — *Le lactacidogène produit va se dédoubler en acide phosphorique et acide lactique*, tout comme pendant une hydrolyse *in vitro*. Nous nous permettons de signaler une hypothèse d'ordre histologique selon laquelle cette destruction a lieu dans les disques sombres des muscles striés. A ce moment, dans ces disques une grande quantité d'« ions H » se trouve libérée. Ils augmentent la tension superficielle du disque qui se resserre, la somme de ces contractions produit le mouvement d'ensemble du muscle. Ainsi, par l'intermédiaire du lactacidogène se réalise la transformation *in vivo* d'une énergie chimique en une énergie mécanique. Après le travail où la contraction strychnique, la perte en lactacidogène est considérable dans le muscle blanc qui a des contractions rapides ; elle est minime, au contraire, dans le muscle rouge qui a des contractions lentes. (131-130). Donc, le muscle rouge qui se contracte lentement et se fatigue peu, a une teneur faible en lactacidogène, il est riche, au contraire, en acide phosphorique organique restant qui au fur et à mesure des besoins reconstituera le lactacidogène. Au contraire, le muscle blanc, qui se contracte avec rapidité, contient beaucoup de lactacidogène immédiatement utilisable ; mais il s'épuise vite car il contient peu d'acide phosphorique organique restant.

L'action de l'insuline sur ces phénomènes n'est pas connue.

V. — *Enfin, l'acide phosphorique formé va probablement contribuer à la formation de cet acide combiné et pourra ultérieurement resservir à la contraction*. D'au-

tre part, l'acide lactique va évoluer selon deux directions bien différentes : un quart environ de cet acide est oxydé et éliminé ; le reste reconstituerait du glucose (147). Cependant, Mann a montré que l'administration d'acide lactique, après ablation du foie, ne diminue pas l'hypoglycémie chez l'animal en expérience. On doit donc penser que pour que cet acide reforme du glucose, il faut probablement un acide intracellulaire (150). L'insuline augmente la production d'acide lactique dans le muscle de l'animal injecté, il faut donc penser que si elle exerce une action favorable sur la reconstitution du glucose aux dépens de cet acide, cette action doit être minime.

Ce phénomène est extrêmement général. De nombreux éthers hexose-phosphoriques ont été rencontrés dans le règne végétal et les auteurs anglais ont signalé dans le jus de levure fermenté en présence de phosphates, des éthers hexose-monophosphoriques et hexose-diphosphoriques, il convient de noter que l'addition de phosphates à la levure (53) permet un meilleur rendement en glucoquinine. On peut se demander devant l'extension de ces phénomènes s'ils ne constituent pas une manifestation inséparable du métabolisme normal des hydrates de carbone.

La question telle que nous l'avons présentée est fragmentée en autant de chapitres que cette destruction moléculaire comporte de métaphorphoses. Il n'est pas toujours facile d'observer ou d'expérimenter en poussant aussi loin l'analyse des faits. C'est pourquoi plusieurs auteurs ont envisagé la question globalement ; essayant de tourner la difficulté en ne considérant que

les points extrêmes du métabolisme. Tout d'abord sur des muscles détachés, l'action de l'insuline a été étudiée par M. Chambon qui a fait des circulations artificielles dans les muscles isolés et constaté une utilisation du glucose chez l'animal insuliné, alors que ce sucre n'est pas utilisé par l'animal normal (120).

De nombreux auteurs se sont attachés à chercher les *variations du quotient respiratoire de l'animal insuliné*. Quelques-uns n'ont pas trouvé de modification (139-123). D'autres, au contraire, ont trouvé le quotient respiratoire nettement augmenté (117-121-153-122-156). D'autres encore ont noté une élévation primitive suivie d'un abaissement secondaire. Il en est enfin, qui, au contraire, ont trouvé un abaissement primitif et une élévation secondaire (151-144). Il convient de conclure, avec Laroche et Dauplain, que toutes les éventualités possibles se réalisent. Ce procédé d'investigation est donc, en somme, peu probant.

Il est un autre mode d'expérience bien souvent employé, c'est l'*étude du régime calorique chez l'animal insuliné*. Les auteurs ont noté une baisse de la température après injection d'insuline (156). D'autre part, la déperdition calorique est accrue chez l'animal insuliné jusqu'au moment des contractions musculaires. A partir de ce moment, elle baisse parallèlement à la température jusqu'à la mort (156). Il suffit d'ailleurs d'une injection de glucose pour relever le taux des échanges. Une expérience directe a été tentée sur le muscle de la grenouille. On a déterminé la chaleur produite par la contraction avant et après son immersion dans l'insuline. Les résultats n'ont pas montré de différence (116).

Il semble donc que l'insuline agisse sur les échanges en les modérant. Mais toutes ces expériences ont été faites sur des animaux insulinés à des fortes doses, placés par conséquent dans des conditions anormales. Enfin le rapport D/N, soit sucre/azote, est diminué (153).

On le voit, trois hypothèses ont été mises en avant pour expliquer le rôle régulateur de l'insuline. Pour les uns, il s'agissait de *transformation d'ordre stéréochimique* exercée par l'insuline sur le glucose sanguin. Cette explication repose, nous l'avons dit, sur des faits très discutables. Pour d'autres, l'insuline agit par l'*intermédiaire du foie*. Cette explication doit être abandonnée aujourd'hui.

Il reste donc simplement une *action de l'insuline sur le métabolisme terminal des hydrates de carbone* au moment où le sucre donne du lactacidogène. Encore que cette hypothèse s'appuie sur quelques faits positifs assez nets, on est loin d'avoir saisi l'ensemble de ces transformations.

L'insuline et les autres régulateurs du métabolisme des hydrates.

On a depuis longtemps noté d'autres agents capables de modifier le métabolisme des sucres. Les glandes surrénales, le corps thyroïde, le système nerveux et même l'hypophyse ont une action bien connue. Nous ne pouvons entrer dans le détail de ces actions particulières ; cependant, nous devons noter que tous les auteurs admet-

tent qu'après extirpation des *capsules surrénales*, l'insuline agit plus rapidement et plus énergiquement (170-172). De même, chez l'*animal éthyroïdé*, l'insuline accroît son action (167-173). Et nous pouvons rapprocher de ces faits expérimentaux une observation clinique de M. Jean Lépine qui a vu s'améliorer une maladie de Basedow sous l'action de l'insuline (169).

Par contre, on a noté une inhibition de l'activité insulique par une injection *d'extrait du lobe postérieur d'hypophyse* (166).

L'*action du système nerveux* a été peu étudiée dans ses rapports avec l'insuline ; cependant Banting et Best prétendent que la piqure du plancher du 4^e ventricule n'amène plus d'hyperglycémie après l'injection d'insuline (164). Enfin, l'insuline aurait une action excitante sur le pneumogastrique (168).

Conclusions.

1° Nous avons étudié l'action directe *in vitro* de l'insuline sur les différents hydrates de carbone : elle est négative.

2° Nous avons encore obtenu des résultats absolument négatifs en étudiant l'action de l'insuline sur différentes solutions d'hydrates de carbone en présence du sérum sanguin.

3° Nous avons cherché qu'elle était la modification qu'apportait l'insuline à l'action des différents ferments normaux du sang. Elle exagère nettement l'action du ferment maltolytique, agit de façon très variable sur le ferment glycolytique, et reste complètement inactive vis-à-vis des ferments qui détruisent la dextrine et le glycogène.

4° Incidemment, nous avons réussi à démontrer que le sérum sanguin hydrolysait la dextrine.

5° L'addition à des solutions de différents sucres, d'extraits d'organes, tels que le poumon ou le foie, n'amène aucune modification dans l'action exercée par

l'insuline sur ces sucres ; l'addition de composés phosphorés ne donne lieu, elle aussi, à aucun phénomène nouveau.

6° L'acide picrolonique dont nous avons essayé l'action sur l'insuline précipite des cristaux encore inconnus qui jusqu'à présent n'ont pas agi sur la glycémie, mais qui peuvent peut-être présenter un intérêt que pourront dégager des études ultérieures.

Au cours de ces recherches, nous ne nous sommes servis que d'une insuline préparée par nous ou achetée dans le commerce, dans les deux cas préparée selon la méthode de Chabanier, et dont l'action avait été constatée, par nous, sur le lapin.

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,
L. HUGOUNENQ

Vu :
LE DOYEN,
JEAN LÉPINE.

Vu et permis d'imprimer :
Lyon, le 9 Juin 1924
LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
CAVALIER.

Bibliographie.

I. — Dosage des sucres :

- 1 AMBARD. — *Bul. soc. chim. biol.*, 1920, n° 2, p. 203.
- 2 FOLIN et WU (J.). — *Biol., Chem.*, 38, p. 106, 1918 et p. 211, 1920.
- 3 FONTES. — *Bullet. Soc. chim., biol.*, 1922, n° 10.
- 4 FONTES et THIVOLLE. — Méthode de microdosage manganométrique du glucose. *Bul. Soc. chim. biol.*, 1921, n° 5, p. 296.
- 5 SPEHL. — Dosage du glucose par la méthode de Fontes et Thivolle modifiée. *Société belge de biol.*, séance du 23 février 1924.

II. — Préparation de l'insuline :

- 6 ALLEN and PIPER. — A rapid method of preparing the antidiabetic substance of pancreas. *Soc. for. biol. and med.*, may 1923, New-York.
- 7 ARON. — *C. R. S. B.* (1) ; 1920-1923. « Utilisation du pancréas de fœtus ».
- 8 BANTING, BEST, COLLIP. — *Canadian medical Association*, Mars 1922.
- 9 BANTING et BEST. — The internal secretion of pancreas. *J. lab. and clin. méd.* : 1921-1922, VII, 251-266, n° 5.
- 10 BANTING. — *J. lab. and clin. méd.* : 1922, VII, 464.
- 11 BANTING, BEST, MACLEOD. — *J. Biol. chem.*, octobre 1923, LVII. (*Revue des travaux antérieurs*).
- 12 CHABANIER. — *Bul. Soc. chim. biol.* : n° 5, p. 388, 1923. *Bul. méd.*, juin 1923.
- 13 CLOUGH, ALLEN, MURLIN. — Comparaison of perfusates and extracts of pancreas. *Int. phys. congr. Edimburg*, juillet, 1923.
- 14 COLLIP. — *Trans. roy Soc. Canada*, 3^e série, may 1922.
- 15 — — *Journ. am. med. ass.* LXXX, 1923.
- 16 — — *J. biol., chem.*, 1923, 55.

(1) *C. R. S. B.* Compte rendu de la Société de biologie.

- 17 DUDLEY. — The purification of insulin. *Bioch. j.* : 1923, 17, p. 376.
- 18 DOISY. — (Point isoélectrique). *J. Biol. chem.* LV, p. XXXI, 1923.
- 19 DOURIS. — Une nouvelle notation de l'acidité P. H., *Bull. soc. pharm.*, 30, 1923, p. 469 et 538.
- 20 FISHER. — A note on the purification of insulin. *J. am. méd. ass.*, 1923, 81, p. 920.
- 21 GLEY. — *C.R.S.B.*, 23 décembre 1922, (Ouverture du pli scellé déposé en 1905).
- 22 MACKENSIE WALLIS. — *The Lancet*, 2 décembre 1922.
- 23 MACLEOD. — Extrait de pancréas de téléostéen. *J. of. met. res.*, août 1922, New-Jersey.
- 24 MOLONEY et FINDLEY. — Concentration of insulin by adsorption on benzoic acid. *J. biol. chem* : 1923, LVII, p. 359.
- 25 MURLIN. — *Endocrinology*, juillet 1922, VII, p. 519, et 535.
- 26 — — *Proces. Soc. Exp. biol. med.*, 1922, p. 20-70.
- 27 MURLIN, CLOUGH, GIBBS et STOKS. — Aqueous extracts of pancreas. *J. biol. chem* : 1923, T. 56, p. 253 et 293.
- 28 MURLIN, CLOUGH, GIBBS et STONE. — Extraction de la substance insuline, par perfusion du pancréas. *Am. J. of phys.*, tome 64, p. 330, 347, 363, 1923.
- 29 PAULESCO. — Role du pancréas dans l'assimilation nutritive. *Arch. int. de Phys.*, août 1921, vol. XVII, p. 85, Liège.
- 31 — — Traitement du diabète. *C. R. S. B.*, 27 déc. 1923, p. 714.
- 32 — — *Soc. biol. roumaine*, 27 décembre 1923.
- 33 — — *Soc. biol. roumaine*, 21 avril 1924.
- 34 ROBERTS. — (Contestation de la valeur de l'insuline). *The brit. med. j.*, 16 déc. 1922.
- 35 SORDELLI. — *C. R. S. B., Argentine*, 15 nov. 1923, p. 254.

III. — PHYSIOLOGIE : Diffusion de l'hormone pancréatique.

- 36 ASHBY. — An insulin like subt. in the Kidney spleen and skeltal muscl. *J. of am. Phys.*, p. 77, 1924.
- 37 ALEXANDER et EHMAN. — *Zeit. fur exp. Path.*, 1908.
- 38 BEST et SCOTT. — *J. of am. med.*, 4 août 1923.
- 39 BIEDL. — *Wien Klin. woch.*, 1907 et 1916.
- 40 CARLSON. — *Am. Jo of. Phys.*, 1911.
- 41 CLARK. — *J. expr. med.*, 1916-1917.
- 42 COLLIP. — *J. Biol. chem.*, 1923, août, p. 65, et 1923, t. LVI, p. 513.
- 43 — — The Démonstration of an insulin like subst. in the tissu of the Clam., *J. biol. chem.*, 1923, 55, XXXIX.
- 44 DIAMARE. — *Centralblatt phys.*, 1904.

- 45 DRENNAM. — *Am. j. of phys.*, 1911, 27, p. 396-402.
- 46 FALTA. — *Wien Klin woch.*, 1907.
- 47 FISCHER. — *J. of am. Physiol.*, décembre 1923, et année 1924
- 48 GLEY. — *C. R. A. S.*, (1), 1891, p. 112, et 752.
- 49 HEDON. — *Arch. de phys.*, 1892.
- 50 — — *Arch. int. phys.*, 1910, p. 351.
- 51 — — *C. R. S. B.*, 1913.
- 52 — — *C. R. S. B.*, 1924.
- 53 BROUGHAM, HUTCHINSON, SMITH et WINTER. — *Biol. chem.*, 1923, n° 6, (Studies on Carbo, hydrates métabolisme).
- 53 bis HOUSSAY et RIETTI. — *C. R. S. B., Argentine*, Séance 3 avril 1923. in *C. R. S. B.*, 13 juin 1924, p. 27.
- 53 ter IVY FISCHER. — *J. Am. Phys.*, n° 3, p. 445.
- 54 KUMAGI et OSATO. — *J. of exp. med.* 1920, et *C. R. S. B.*, 1919.
- 55 R. LEPINE. — *Revue de médecine*, 1894.
- 56 — — Extirpation du pancréas et diabète. *Lyon Médical.*, 1889, p. 493.
- 57 — — Rapport entre diabète et lésions du pancréas. *Lyon Méd.*, 1889, p. 309.
- 58 MACLEOD. — *J. metab. Res.*, 1922. 2, pp. 149, et 172.
- 59 Von MERING Und MINKOWSKI. — Diabètes Mellitus nach pankreas extirpation, *Centrablatt fur klin. med.* 1889, X, p. 393, et *Arch. f. exp. Path. Und Pharm.*, 1890, 26, p. 371 et 387.
- 60 MINKOWSKI. — *Berliner Klin woch.*, 1892.
- 61 MURLIN and KRAMER. — *Journ. biol. chem.*, 1913-1916.
- 62 MURLIN, CLOUGH, STOKES. — *Am. j. of phys.*, 1923, p. 64, 330 et 349.
- 63 SCOHOLEW. — *Virchow's Archiv.*, 1902.
- 64 SCHULZE und WALTER. — *Arch. f. Mik. anat.*, 1900.
- 65 SORDELLI et HOUSSAY. — Action comparée de l'insuline sur diverses espèces animales. *C. R. S. B.*, 1923, p. 89, 745.

IV. — Le sang et l'insuline.

- 66 BIERRY et RATHERY. — Glycolyse aseptique. *C. R. S. B.* 16/2/1924.
- 67 — — Sucre protéidique et insuline. *C. R. S. B.*, janvier 1924, p. 36.
- 68 COOPER, WALKER. — Reducing subst. in human. *Blood-Bioch.*, J. 1922, p. 459.
- 69 M. CORNNIC, MACLEOD, O'BRIEN, NOBLE. — *Proc. am. phys. Soc.* 36 th. meet et *am. Journ. Phys.*, 1923, 63, n° 3.
- 70 COUVREUR et Mlle BELLION. — *Soc. de Biol.*, 19 oct. 1907.

(1) *C. R. A. S.* — Comptes rendus de l'Académie des Sciences.

- 71 COUVREUR. — *Soc. linéenne de Lyon*, 1898.
- 72 VAN CREVELD. — *Bioch. J.*, 17-860, 1923.
- 73 DESGREZ, BIERRY, RATHERY. — *Soc. méd. Hôp.*, 30 nov. 1923.
- 74 EADIE, MACLEOD, NOBLE. — *Insulin and glycolysis. Am. Journ. of Phys.*, août, 1923.
- 75 EADIE, MACLEOD. — *Am. Journ. Phys.* 1923, tome LXIV, p. 285-296.
- 76 FUNK. — *C. R. A. S.*, 22 octobre 1923.
- 77 FORREST, SMITH, WINTER. — *Journ. of Phys.*, 1923, tome 57, p. 224.
- 78 FISHER. — *Journ. chem. Soc.*, 1915, t. 107, p. 524.
- 79 HANRIOT. — *Soc. de Biol.*, 1898, p. 534.
- 80 HEDON. — *C. R. S. B.*, 1898, p. 511.
- 81 HUGOUNENQ et DOYON. — *Arch. physiol.*, 1897, IX, p. 834.
- 82 ISCOVESCO, BOUGE. — *XVII^e Congrès français de méd.*, Sept. 1923.
- 83 IRVINE et PATTERSON. — *Journ. chem. Soc.*, 1922, p. 2146, t. 121.
- 84 R. LEPINE et BARRAL. — *C. R. A. S.*, Juin 1891.
- 85 R. LEPINE. — Article glycolyse, in *Dictionnaire de Richet*, p. 459.
- 86 R. LEPINE. — *Le sucre du sang. Chez Alcan*, 1921.
- 87 LINOSSIER et ROQUE. — *Arch. de méd., exp.*, 1^{er} mars 1895.
- 88 MATHEWS. — *Phys. chemistry*, p. 29, chez Wood, New-York, 1910.
- 89 DE MEYER. — *Ann. Instit. Pasteur*, Paris, 1908, p. 779.
- 90 MOREL et Mlle BELLION. — *C. R. S. B.*, 2 juillet 1910.
- 91 MOZOTOWSKI. — *C. R. S. B. polonaise*, 14 janvier 1924, p. 34.
- 92 NITZESCU, POPESCU, INOTESTI. — *C. R. S. B.*, p. 534, 1924.
- 93 NITZESCU, POPESCU. — *C. R. S. B.*, 1923, p. 1403.
- 94 NITZESCU, POPESCU. — *C. R. S. B.*, 1924, p. 534.
- 95 NISTI. — *Arch. j. exp. path.*, tome LXII.
- 96 NOBLE, MACLEOD. — *Am. j. of phys.*, 1923, p. 546.
- 97 RICHAUD et COIRRE. — *C. R. S.*, *Chim. biol.*, 1923, p. 891.
- 98 SLOSSE. — *C. R. S. B., belge*, 2 juin 1923, p. 99.
- 99 WINTER, SMITH. — *Br. med. journ.*, 26 mai 1923.
- 100 — — *Journ. of Phys.*, 8 juin 1923.
- 101 THALHEIMER. — *Journ. am. med. ass.*, 80, p. 1624, 1923.

V. — Le foie et l'insuline.

- 102 AMBARD et SCHMID. — *De la dualité de l'insuline. C. R. S. B.*, Strasbourg, 14 mars 1924.
- 103 ARON. — *C. R. S. B.*, 1923, p. 573.
- 104 BRENNMANN et FEURBACH. — *C. R. S. B.*, 1923, p. 1.113.
- 105 Cl. BERNARD. — *C. R. A. S.*, 24 septembre 1858.

- 107 HENDRIX, SWEET. — *J. biol. chem.*, janvier 1923, p. 168.
108 MANN et MAGATH. — *Archiv. of int. med.*, juin 1923. *Proces am. Journ. of Phys.*, février 1923. *Am. J. Phys.*, 1924, p. 397. *Journ. of Phys.*, 1924, p. 403 et p. 424.
109 MARTZ. — *Physiologie du foie*, Thèse Lyon, 1898.
110 DE MEYER. — *Arch. int. Phys.*, 1910, p., I.

VI. — Le catabolisme des hydrates de carbone et l'insuline.

- 111 ADLER. — *Zeit. Phys. Chem.* 113, p. 193. 1921, 113, p. 174, 1921. 113, p. 187, 1921.
112 AHLGREN. — XI^e *Int. Phys. Congress.* Edimburg, 23 juillet 1923.
113 AMBARD, SCHMID. — *S. R. S. B.*, 1923, 12 juillet.
114 AMBEL, WURMSER. — *C. R.*, Tome 177, p., 866, 1923.
115 AUDAVA et WAGNER. *C. R. S. B.*, p. 308, 1924.
116 AZUMA et HARTREE. — *Biochem.*, 1924, p. 875.
117 BANTING, CAMPBELL, FLETCHER. — *Br. méd. journ*, 6 janv. 1923. et *The Journ. of med. res.*, 17 mars 1923.
118 BIGGS, DOISY. — *J. biol. chem.*, 1923, tome LVIII, p. 721.
119 BELL. — *J. biol. chem.*, 1923, tome LVI, p. 97, 1923.
120 CHAMBON. — *Thèse de Lyon*, 1923-1924.
121 CLOUGH, STOKES, GIBB. — *J. biol. chem.*, 1923, 55, XXX et XXVI.
122 MAC CORNICK, MACLEOD, O'BRIEN, NOBLE. — *Am. journ. of phys.* tome 63, p. 389.
123 DUDLEY, TREVAN, BOOCK. — *Proces. Phys. Soc.*, 17 mars 1923. *Journ. Phys.*, 1923, 57, X LVII.
124 DUDLEY, MARRIAN. — *Bioch. Journ.*, 1923, 17, p. 435.
125 EMBDEN et LAQUER. — *Zeit. Phys. chem.*, tome 113, p. 1, 1921.
126 EMBDEN. — *Zeit. Phys. chem.*, tome 113, p. 138, 1921.
127 EMBDEN, GRAFE. — *Zeit. Phys. chem.*, tome 113, p. 108, 1921.
128 EMBDEN, GRAFE, SCHMITZ. — *Zeit. Phys. chem.*, tome 113, p. 67, 1921.
129 EMBDEN, ADLER. — *Zeit. Phys. chem.*, tome 113, p. 201, 1921.
130 EMBDEN, SCHMITZ, MEINCKE. — *Zeit. Phys. chem.*, tome 113, p. 10, 1921.
131 EMBDEN. — *Zeit. Phys., chem.*, tome 113, p. 253, 1921.
132 EMBDEN et ISAAC. — *Zeit. Phys. chem.*, tome 113, p. 263, 1921.
133 EMBDEN. — *Zeit. Phys. chem.*, tome 113, p. 286, 1921.
134 EMBDEN. — *Zeit. Phys., chem.*, tome 93, p. I, 1914-1915.

- 135 EMBDEN, GUESBACH, LAKER. — *Zeit. Phys. chem.*, tome 93, p. 124, 1914.
- 136 EMBDEN. — *Zeit. Phys. Chem.*, 1914, p. 84.
- 137 EMBDEN et LAKER. — *Zeit. Phys. Chem.*, tome 93, p. 94, 1914.
- 138 HAGEMANN. — *Zeit. Phys. Chem.*, t. 93, p. 54. 1914.
- 139 HEDON. — *C. R. S. B.*, p. 1193. .. *C. R. A. S.*, 2 décemb. 1923. — *C. R. S. B.*, 15 décemb. 1923.
- 140 HEWIT. — A note on the nature of sugar in blood. *Br.med. Journ.*, 7 avril 1923, p. 590.
- 141 ISAAC et ADLER. — *Zeit. Phys., Chem.*, t. 113, 1921, p. 271.
- 142 LAQUER. — *Zeit. Phys. Chem.*, t. 116, 1921, p. 169 et 222.
- 143 — — *Zeit. Phys. Chem.*, t. 93, p. 60, 1914.
- 144 LAROCHE, DAUPTAIN, TAGUET. — Influence de l'insuline sur la Q. R. des diabétiques. *C. R. S. B.*, janvier 1924, p. 8.
- 145 LAWENZOCK. — *Zeit. Phys. Chem.*, t. 113, 1921, p. 301.
- 146 LEVENNE et MEYER. — *Jour. Biol. Chem.*, t. 48, p. 233, 1921, et t. 53, p. 431, 1922.
- 147 LONG, LUPTON. — *Journ. de Physiologie*, t. 57, 1923.
- 148 LYDING. — *Zeit. Phys. Chem.*, t. 113, p. 223, 1921.
- 149 LYMAN, NICHOLLS. — *The Journ of Pharm. and exper. therap.* 1923, XXI, n° 5, p. 342.
- 150 MANN et MAGATH. — *Am. jour. of phys.*, tome 63, p. 424, 1923
- 151 MATTON. — *C. R. S. B. belge*, 26 janvier 1924, p. 361.
- 152 MEYER et COHN. — *Zeit. Phys. Chem.*, t. 93, p. 46, 1914.
- 153 MURLIN et KRAMER. — *Jour. biol. Chem.*, 1913, XV. p. 365.
- 154 MURLIN, CLOUGH, GIBBS, STOKES. — *Journ. biol. Chem.*, t. 56, p. 153, 1923.
- 155 NITZESCU et COSMA. — Insuline et oxydase du muscle. *C. R. S. B., roumaine*, 8 mars 1924, p. 1077.
- 156 NOYONS. — Influence de l'insuline sur la déperdition calorique du lapin. *C. R. S. B. belge*, 26 janvier 1924
- 157 PANAJOTAKIS. — *Zeit. Phys. Chem.*, p. 244, 1921.
- 158 QUINSTE et RIETTY. — *C. R. S. B., Argentine*. Action de l'insuline sur la composition du lait, 15 nov. 1923.
- 159 RICHAUD et COIRRE. — Indications fournies par la polarimétrie dans l'étude du métabolisme des sucres de l'organisme. *Bul. Soc. Chim, biol.*, T. V., p. 890, 1923.
- 160 ROBISON. — *Bioch. journ.*, 1922, p. 809.
- 161 WECHSELMANN. — *Zeit. Phys.*, t. 113, p. 146, 1921.
- 162 WIGGLESWORTH, WOODROW, SMITH, WINTER. — On the effect of insulin on blood. *Journ. of Phys.*, 1923, LVII, p. 447.
- 163 WINTER et SMITH. — *Br. Med. Journ.*, p. 13, 1923.

Interaction glandulaire.

- 164 BANTING, BEST, COLLIP. — *Am. journ. of Phys.*, t. 62, p. 559, 1922.
Action de l'insuline après la piqûre du bulbe.
- 165 BIERRY, RATHERY. — *C. R. S. B.*, 1922, p. 1135.
- 166 BURN. — *Journ. of Phys.*, t. 57, p. 318, 1923.
- 167 DUCHENEAU. — *C. R. S. B.*, 1924, p. 248.
- 168 GARRELOU. — *C. R. S. B.*, 1924, p. 470.
- 169 Jean LEPINE et PARTURIER. — Action de l'insuline sur la maladie de Basedow. *C. R. S. B.*, 2 février 1924.
- 170 LEWIS. — *C. R. S. B.*, 1924, p. 1119.
- 171 PETENYI. — *Bioch. zeits.*, t. 125, p. 272, 1921.
- 172 SUNDBERG. — *C. R. S. B.*, p. 89, 1923.
- 173 WINTER et SMITH. — *Journ. of Phys.*, t. 58, p. 108, 1923.

Composition chimique.

- 174 ALLS, WINEGARDEN. — *Journ. biol., Chem.*, t. 58, p. 225, 1923.
- 175 BEST, MACLEOD. — *Journ. biol. chem.*, t. 55, XXIX, 1923. *Proc. Amer., Phys. Soc.*, t. 63, 1923.
- 175 bis DOISY. — *Journ. biol. chem.*, t. 55, p. 31, 1923.
- 176 HORACE, SHONLE, WALDO. — *Journ. biol. chem.*, t. 58, p. 731, 1923.
- 177 KIMBALL, MURLIN. — *Journ. Biol. Chem.*, t. 58, p. 337, 1923.
- 178 MAGENTA. — *C. R. S. B. Argentine*, p. 249, 1923.
- 179 PIPER, ALLEN, MURLIN. — *Journ. biol. Chem.*, 1923, t. 58, p. 321.
- 180 SHONLE et WALDO. — *Journ. biol. chem.*, t. 58, p. 731, 1923.
- 181 WIDMARK. — *Bioch. journal*, n° 4 et 5, p. 668, 1923.
- 182 WITZEMAN. — *Journ. biol. chem.*, 1923, p. 425.
- 183 WITZEMAN et LIVESHIS. — *Journ. biol. chem.*, t. 58, p. 463, 1923.

Titrage de l'insuline.

- 184 BANTING, BEST. — *Am. jour. of Phys.*, p. 63, 391, 1923. *Pro. amer. Phys. Soc.* t. 35, th. meet.
- 185 DELEZENNE, HALLION, Mlle LEOEBT. — *Presse médicale*, n° 94, 24 nov. 1923.
- 186 DEGRETZ, BIERRY, RATHERY. — *C. R. A. S.*, 21 juillet 1923, p. 473.
- 187 FRAZER. — *Journ. lab. and. clin. med.*, p. 425, 1923, LXIV.
- 188 MACLEOD. — *Am. Journ. Phys.*, t. 64, p. 330, et t. LXII, p. 162, t. LIV, p. 348.
- 189 PENAU, SIMONNET. — Congrès de méd. de Bordeaux, sept. 1923, et *Journ. de pharm. et de chim.*, 1^{er} décemb. 1923.

Thérapeutique.

(Pour ce qui concerne ce chapitre, nous n'avons pu être complet, nous nous sommes simplement efforcé de rapporter les publications les plus importantes.)

- 190 ALLEN. — *Studies concernig glucosuria and diabetes*, Cambridge, 1913.
- 191 BANTING. — *Brit. med. Journ.*, 6 janvier 1923, p. 1, 8, 12.
- 192 BANTING, BEST, COLLIP. — *Tr. roy. soc. Canada*, 1922, Section V, série3, 16.
- 193 BANTING, BEST, COLLIP, MACLEOD, NOBLE. — *Am. Journ. of. Phys.*, 1922, p. 62, 162, 176.
- 194 BLM. — *Soc. de méd. du Bas-Rhin*, 26 mai 1923, *Pres. méd.*, 21 juillet 1923 ; *C. R. A. S.*, 16 janvier 1923.
- 195 BLUM, SHWAB. — *C. R. S. B. Strasbourg*, 9 février et 27 avril 1923.
- 196 BLUM. — *C. R. S. B.*, p. 195, 1923.
- 197 CHABANIER. — *XII^e Congrès de méd.*, Bordeaux.
- 198 CHABANIER, LOBO-ONNEL, LEBERT. — *Pres. méd.*, p. 579, 1923, et 23 avril 1924 ; *Bull. méd.*, 4/II et 18 juillet 1923.
- 199 CHEINEISSE. — *Pres. méd.*, 24 nov. 1923.
- 200 COLLIP. — *Am. Journ. of. Phys.*, 1922, t. 63 ; *Proc. am. Phys. Soc.*, 35, th. meet.
- 201 DEGREZ, BIERRY, RATHERY. — *Paris Médical*, 15 septem, 1923, et *C. R. A. S.*, 18 juin 1923.
- 202 LABBE, NEPVEUX. — *Presse méd.*, 24 nov. 1923, et *Congrès de Bordeaux*, 27 sept. 1923.
- 203 MACLEOD. — *Brit. méd. Journ.*, 4 novemb. 1922.
- 204 MACKENZDE, VALIS. — *The Lancet*, 2 décemb. 1922.
- 205 MAURIAC. — *XII^e Congrès de méd. de Bordeaux*.
- 206 MOURIQUAND. — *Diabète et 'nsuline. Journal de médec. de Lyon*, 5 janvier 1924.

Revues générale.

- 207 ALLEN. — *Journ. Met. research.*, 1922, p. 125.
- 208 BAUDOIN, BIERRY. — *Journ. méd. français*, sept. 1923.
- 209 BENOIT. — *Revue française d'endocrinologie*, sept. 1923.
- 210 BIERRY. — *Le diabète sucré, inRevue sc'ent.*, 1924, n° 5 et 6.
- 211 DELOZENNE et HALLION. — *Paris méd.*, 24 novemb. 1923.
- 212 FIESSINGER. — *S. Prat.*, 10 novemb. 1923.
- 213 FABRE. — *Journ. Pharm. et Chim.*, n° 10, 16 novem. 1923.

- 214 GARDIN. — *Thèse de Paris*, 1923.
- 215 GIBBS, ROOT. — *XI^e Congr. internat. de Phys.*, Edimburg, juillet 1923.
- 216 LYONNET. — *Lyon Médical*, décembre 1923.
- 217 PENEAU, SIMONNET. — *Bull. des Sciences pharm.*, n° 1, 1924.
- 218 SIMONNET. — *Bul. de Soc. chim. biol.*, janvier 1924, n° 1 et 6 novembre 1923.
- 219 TURPIN. — *Prog. méd.*, 26 mai 1923.
-

Table des Matières

Introduction.....	9
Composition chimique de l'insuline.....	13
Techniques utilisées pour nos recherches.....	17
I. — Précipitation des albuminoïdes.....	17
II. — Microdosage des sucres.....	18
III. — Préparation de l'insuline.....	19
IV. — Dosage de l'insuline obtenue.....	23
Travaux personnels.....	25
L'insuline et le métabolisme des hydrates de carbone.....	39
Un principe hypoglycemiant se trouve chez tous les êtres vivants qui utilisent les hydrates de carbone.....	42
Le cycle des hydrates de carbone dans l'économie animale; le rôle de l'insuline.....	45
Ferment glycolytique.....	53
Le foie et l'insuline.....	58
Le catabolisme des hydrates de carbone et l'insuline.....	61
Conclusions.....	71
Bibliographie.....	73

